

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E BIOQUÍMICA



***Previsão da acidez, de compostos fenólicos por
métodos computacionais. Contribuição para o
esclarecimento da função antioxidante.***

José Manuel Almeida Santos Nunes

DISSERTAÇÃO

MESTRADO EM QUÍMICA

2012

UNIVERSIDADE DE LISBOA
FACULDADE DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA E BIOQUÍMICA



***Previsão da acidez, de compostos fenólicos por
métodos computacionais. Contribuição para o
esclarecimento da função antioxidante.***

José Manuel Almeida Santos Nunes

DISSERTAÇÃO
MESTRADO EM QUÍMICA

ORIENTADOR:
Doutor Pedro Miguel Duarte Vaz

2012

Agradecimentos

Ao meu orientador, o Doutor Pedro Miguel Duarte Vaz e, também, à Doutora Carla Maria Duarte Nunes, pela ajuda, apoio e companheirismo demonstrados ao longo da realização da presente dissertação. Quero, ainda, agradecer os conhecimentos transmitidos necessários à compreensão e realização de todo o trabalho.

Ao Professor Carlos Borges, Faculdade de Lisboa da Universidade de Lisboa, agradeço-lhe a enorme simpatia e disponibilidade demonstrada, para a frequência deste mestrado.

Aos colegas de mestrado por todo o apoio e disponibilidade demonstrada.

À Mestre Cristina Isabel Silva Fernandes por todo o apoio, motivação, boa disposição e paciência, que me transmitiu.

Às minhas amigas Gina Carvalho e Maria de Jesus Miguelito por toda a ajuda, motivação e boa disposição, que me transmitiram.

Resumo

As propriedades antioxidantes que certos compostos apresentam devem-se à sua acção neutralizadora de radicais livres. Neste contexto os compostos (poli)fenólicos são vistos como líderes, pois apresentam actividade antioxidante, que se espelha nas propriedades antiinflamatórias e anticancerígenas, entre outras, e, consequentemente, de antienvelhecimento.

A acção inibitória dos radicais livres processa-se por meio de transferência do átomo de H do grupo OH fenólico, resultando a actividade antioxidante da energia da ligação O–H. Esta energia de ligação pode determinar-se, experimentalmente, por medição das afinidades electrónicas dos radicais fenoxilo ou das entalpias de formação dos aniões fenóxido.

No presente trabalho pretende-se fazer uma abordagem a este assunto por meio de técnicas computacionais, que permitirão avaliar a relação estrutura-actividade de fenóis substituídos – cromanóis, trolox, vitamina E, entre outros, com o objectivo de investigar a influência de substituintes na acidez.

A relevância do presente estudo prende-se com o facto de, conhecendo a acidez dos compostos, ser mais fácil o desenvolvimento de novos fármacos.

Palavras chave:

Acidez, antioxidante, cromanol, DFT, dimetoxifenol, fenóis, tocoferol, vitamina E

Abstract

Certain compounds exhibit antioxidant properties due to their neutralizing action towards damaging free radicals. In this context (poly)phenolic compounds are seen as the leading family of antioxidant activity, which is reflected in anticancer and anti-inflammatory properties among other, and hence as anti-aging powerful tools.

The inhibitory action of the free radicals takes place by H atom transfer from the phenolic OH group. The resulting antioxidant activity arises from the binding energy of the O–H bond. This binding energy can be experimentally determined by measuring either the electronic affinity of the phenoxy radicals or the formation enthalpy of the phenoxide anions, for a given compound.

As part of a wider strategy, In the present work the aim is to assess this issue by computational techniques, which allow evaluating the structure-activity relationship of substituted phenols – cromanol, trolox and derivatives, vitamin E, among others – with the aim to investigate the role of substituent groups on the acidity and antioxidant activity at Large.

The relevance of this study relates to the fact that knowing the acidity of the compounds, it is easier to develop new drugs.

Keywords:

Acidity, antioxidant, chromanol, DFT, dimethoxyphenol, phenols, tocopherol, vitamin E

Índice Geral

<i>Agradecimentos</i>	<i>i</i>
<i>Resumo</i>	<i>iii</i>
<i>Abstract</i>	<i>v</i>
<i>Índice Geral</i>	<i>vii</i>
<i>Índice de Tabelas</i>	<i>ix</i>
<i>Índice de Figuras</i>	<i>xi</i>
<i>Glossário</i>	<i>xiii</i>
CAPÍTULO I: ANTIOXIDANTES, TIPOS E MECANISMOS DE ACÇÃO	1
1. INTRODUÇÃO	3
1.1. Oxidação e Antioxidantes	3
1.1.2. Antioxidantes endógenos	3
1.1.2. Antioxidantes exógenos	4
1.2. Fenóis E Polifenóis	5
1.3. α-Tocoferol	8
1.4. Mecanismos De Actuação De Antioxidantes	10
1.5. Radicais Livres	11
1.6. Métodos Termoquímicos	12
1.7. Entalpia E Variação De Entalpia	15
1.8. Factores Que Influenciam O Valor Da Variação De Entalpia	15
1.8.2. Temperatura	15
1.8.2. Pressão	16
1.8.2. Quantidade de reagentes e produtos	16
1.8.2. Fase de agregação	16
1.8.2. Variedade alotrópica	16
1.8.2. Presença de solvente	16
1.9. Determinação Indirecta Do Calor De Reacção	17

1.10. Métodos Ab-Initio.....	17
1.10.1. Teoria do funcional da densidade.....	19
1.10.2. Teorema de Hohenberg-Kohn.....	19
1.10.3. As equações de Kohn-Sham	20
1.10.4. Os funcionais híbridos	21
BIBLIOGRAFIA.....	23
CAPÍTULO II: RESULTADOS E DISCUSSÃO	27
2. INTRODUÇÃO.....	29
2.1. Análise Estrutural	30
2.1.1. Compostos neutros	30
2.1.2. Compostos aniônicos	33
2.1.3. Compostos radicalares	36
2.2. Origem da actividade antioxidante.....	40
2.2.1. Acidez dos compostos	40
2.2.2. Formação de radicais	43
BIBLIOGRAFIA.....	46
CAPÍTULO III: CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	47
3. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS.....	49
CAPÍTULO IV: DETALHES EXPERIMENTAIS	51
4. DETALHES EXPERIMENTAIS	53
BIBLIOGRAFIA.....	55

Índice de Tabelas

Tabela 1. Distâncias de interação $r_{H\cdots O}$ respectivas ordens de ligação de Wiberg das ligações X–H \cdots O (X = C, O) intramoleculares dos compostos neutros das famílias F e C.	32
Tabela 2. Distâncias de interação $r_{H\cdots O}$ respectivas ordens de ligação de Wiberg das ligações X–H \cdots O (X = C, O) intramoleculares dos aniões das famílias F e C.	36
Tabela 3. Distâncias de interação $r_{H\cdots O}$ respectivas ordens de ligação de Wiberg das ligações X–H \cdots O (X = C, O) intramoleculares dos radicais das famílias F e C.	38
Tabela 4. Valores de $\Delta_{ac}H^o$ e de $\delta\Delta_{ac}H^o$ calculados e experimentais (quando disponíveis) para todos os compostos em estudo.....	42
Tabela 5. Valores de $\Delta_{HAT}H^o$ e de $\delta\Delta_{HAT}H^o$ calculados e experimentais (quando disponíveis) para todos os compostos em estudo.....	44

Índice de Figuras

Figura 1. Exemplo do processo de formação de radicais livres exógenos.....	5
Figura 2. Estruturas de ressonância do fenol e ião fenóxido.....	6
Figura 3. Estrutura do Catecol.	7
Figura 4. Estrutura de um polifenol (quercetina).	7
Figura 5. Exemplo da formação de um radical livre a partir de um átomo.....	11
Figura 6. Exemplo da formação de radicais livres no interior de uma célula.	12
Figura 7. Estrutura do α -Tocoferol ou vitamina E.	8
Figura 8. Família de tocoferóis.	8
Figura 9. Carência de vitamina E nos glóbulos vermelhos.	10
Figura 10. Representação das estruturas dos compostos da família F na forma neutra. As ligações a pontilhado representam as ligações de hidrogénio intramoleculares do tipo $X-H\cdots O$ ($X = C, O$).	31
Figura 11. Representação das estruturas dos compostos da família C na forma neutra. As ligações a pontilhado representam as ligações de hidrogénio intramoleculares do tipo $C-H\cdots O$	32
Figura 12. Representação das estruturas dos compostos da família F na forma aniónica. As ligações a pontilhado representam as ligações de hidrogénio intramoleculares do tipo $C-H\cdots O$	33
Figura 13. Representação das estruturas dos compostos da família C na forma neutra. As ligações a pontilhado representam as ligações de hidrogénio intramoleculares do tipo $C-H\cdots O$	34
Figura 14 . Superfície de energia potencial 2D do grupo substituinte metoxilo no composto 2,6-dimetilfenóxido com base nas rotações das ligações $C_6H_5-OCH_3$ e $C_6H_5O-CH_3$	35
Figura 15. Representação das estruturas dos compostos da família F na forma radicalar. As ligações a pontilhado representam as ligações de hidrogénio intramoleculares do tipo $C-H\cdots O$	37
Figura 16. Representação das estruturas dos compostos da família C na forma radicalar. As ligações a pontilhado representam as ligações de hidrogénio intramoleculares do tipo $C-H\cdots O$	37
Figura 17. Representação da densidade de spin dos compostos da família F na forma radicalar.	39

Figura 18. Representação da densidade de spin dos compostos da família C na forma radicalar.	40
Figura19. Valores de $\delta\Delta_{HAT}H^o$ calculados para todos os compostos em estudo. A linha pontilhada a vermelho é apenas uma guia visual para dividir os compostos que dão origem a radicais transientes (acima da linha) dos radicais persistentes (abaixo da linha).....	45

Glossário

Ab-initio	Primeiros Princípios.
B	Funcional de Becke .
BDE	"Bond Dissociation Enthalpy" (Entalpia de Dissociação de Ligação).
CI	"Configuration Interactions" (Interações de Configuração).
DFT	Density Functional Theory" (Teoria do Funcional da Densidade).
DNA	Desoxiribonucleic Acid" (Ácido Desoxiribonucleico).
GGA	"Generalized Gradient Approximation" (Aproximação do Gradiente Generalizado).
H	Operador Hamiltoniano.
Hb	Hemoglobina.
HF	Hartree-Fock.
IP	(Potencial de Ionização).
J	Termo Coulombiano.
K	Termo de Correlação e Troca.
LCAO	"Linear Combination of Atomic Orbitals" (Combinação Linear de Orbitais Atómicas).
LDA	"Local Density Approximation" (Aproximação da Densidade Local).
LYP	Lee-Yang-Parr.
MK	Mülliken
MPn	Teoria da Perturbação de Møller e Plesset de ordem n.
NAO	"Natural Atomic Orbital" (Orbital Atómica Natural).
NBO	"Natural Bond Orbitals" (Orbitais Naturais de Ligação).
NHO	"Natural Hybrid Orbital" (Orbital Natural Híbrido).
NO	"Natural Orbital" (Orbital Natural).
OWSO	Occupancy-weighted symmetric orthogonalization
PNAO	"Pré-orthogonal Natural Atomic Orbital" (Orbital Atómica Natural Pré-Ortogonal).
r, Y, X	Coordenadas Polares.
RHF	Restricted Hartree-Fock.
RNA	"Ribonucleic Acid" (Ácido Ribonucleico).
SCF	"Self Consistent Field" (Campo Auto-Coerente).
SCRf	"Self-Consistent Reaction Field" (Campo de Reacção Auto-Coerente).
Sij	Integral de "Overlap".

STO	“Slater Type Orbitals” (Orbitais do tipo Slater).
T	Energia cinética da partícula.
TPP	Tetraporfirinato.
V	Energia potencial da partícula.
VSEPR	“Valence Shell Electron Pair Repulsion” (Repulsão de Pares Electrónicos da Camada de Valência).
VWN	Vosko-Wilk-Nusair.
x, y, z	Coordenadas Cartesianas.
Γ	Operador Densidade.
ΔE	Variação de Energia.
E	Energia de uma orbital.
μ	Momento de dipolo.
$\rho(r)$	Densidade Electrónica.
$\rho'(r)$	Densidade Electrónica Aproximada.
χ^i	Orbital Molecular.
Ψ	Função de Onda.

CAPÍTULO I:
ANTIOXIDANTES, TIPOS E MECANISMOS DE ACÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1. Oxidação e Antioxidantes

A oxidação é um processo químico constante em todos os organismos. Trata-se de uma reacção em que uma primeira espécie química cede electrões a uma segunda. Os resultados são facilmente observáveis quando, por exemplo, se descasca uma pêra ou maçã e a deixamos ao ar durante algum tempo. Veremos que adquire uma cor amarelo acastanhada, progressivamente mais escura e rapidamente se deteriora iniciando a putrefacção [1].

De igual modo, no nosso corpo, este processo repete-se a cada momento, milhares e milhares de vezes, por hora, sem que nos apercebamos directamente.

O sinal mais visível será, talvez, o envelhecimento, geral e progressivo, a que estamos submetidos, bem visível na pele, ossos, articulações, etc.

Existem substâncias que ajudam a combater os radicais livres, que se formam durante os processos celulares e que são responsáveis pelo envelhecimento precoce, por doenças cardiovasculares ou certos tipos de cancro. Neste sentido os antioxidantes de origem biológica desempenham um papel importante em diversos processos bioquímicos e, também, na protecção do organismo humano. Estes têm a capacidade de, facilmente, reagirem com radicais livres nocivos, evitando que estes últimos degradem células dos tecidos do corpo. Eles reagem rapidamente com espécies radicalares produzidos nos organismos, tais como, RO_2^\bullet , HO_2^\bullet e O_2^\bullet , impedindo a degradação oxidativa e a reticulação de proteínas, lípidos e do próprio DNA [2].

Os antioxidantes no combate aos radicais livres cedem electrões aos radicais, na medida em que isso não os torne num radical muito reactivo ou os transforme num radical de pouca acção oxidante. Podem também actuar inibindo a reacção de propagação radicalar, já que existem antioxidantes responsáveis pela remoção dos danos oxidativos [3].

Eles podem ser basicamente divididos em antioxidantes enzimáticos (endógenos) ou não-enzimáticos (exógenos - obtidos por meio da dieta).

1.1.2. Antioxidantes endógenos

O nosso organismo possui enzimas protectoras que reparam em 99% os danos causados pela oxidação de espécies químicas necessárias ao bom funcionamento do organismo humano, ou seja, conseguem controlar o nível de radicais produzidos através do nosso metabolismo. Além das enzimas, existem os compostos antioxidantes que combatem a formação de radicais livres

pelo nosso corpo. Estes compostos são os agentes responsáveis pela inibição e redução das lesões causadas pelos radicais livres nas células e designados de antioxidantes.

Os principais antioxidantes enzimáticos são a catalase, glutathione peroxidase e a superóxido dismutase. A catalase está localizada nos peroxissomos do fígado e rins e em microperoxissomos de outras células. É uma hemoproteína que tem especificidade para o peróxido de hidrogénio, não actuando sobre peróxidos orgânicos. Pelo facto de estar compartimentalizada nos peroxissomos, excepto nos eritrócitos e ter pouca afinidade pelo peróxido de hidrogénio comparado a glutathione peroxidase, a catalase torna-se mais importante em condições que ocorram a formação de altas concentrações de peróxido de hidrogénio. Ocorre em alta actividade do fígado e eritrócitos e baixa actividade no cérebro [4–7].

1.1.2. Antioxidantes exógenos

Quando se tem hábitos de vida saudáveis e se faz uma alimentação que inclui uma variedade de alimentos frescos, sobretudo hortícolas e frutos, há uma maior probabilidade de que o organismo esteja protegido contra esses elementos nocivos. Nesta situação, as substâncias antioxidantes que ingerimos juntamente com as que o organismo produz poderão ser suficientes para minimizar o seu efeito nefasto. Mas, com a quantidade de poluentes a que estamos sujeitos, com a alimentação desequilibrada e excessiva a que nos sujeitamos, a que muitas vezes se junta o consumo de tabaco, bebidas alcoólicas e gorduras, a quantidade de radicais livres que se forma é muito superior aos antioxidantes que o organismo consegue produzir, conduzindo ao seu excesso. No fundo, quanto maior for o número e prevalência destes factores de oxidação, maior deverá ser a ingestão de alimentos ricos em antioxidantes [6–8].

Embora os antioxidantes possam ser encontrados na forma de suplementos sintéticos, o ideal será ingeri-los através dos alimentos para diminuir o risco de sobredosagem e colocar em risco a saúde. Os antioxidantes são as vitaminas A, C e E e alguns metais como o Selénio, o Zinco e o Cobre [9].

Os polifenóis e, dentro destes, os flavonóides, são poderosos antioxidantes, que formam os corantes naturais dos vegetais.

Da mesma forma, o emprego de agentes antioxidantes visando o aumento do prazo de validade de produtos alimentícios é uma constante na área da tecnologia de alimentos.

A partir do início dos anos 80, o interesse em encontrar antioxidantes naturais para o emprego em produtos alimentares ou para uso farmacêutico tem aumentado consideravelmente, com o intuito de substituir os antioxidantes sintéticos [10–12].



Figura 1. Exemplo do processo de formação de radicais livres exógenos (imagem retirada de <http://suplementosvitais-radicaais.blogspot.pt/>).

1.2. Fenóis E Polifenóis

As estruturas e os processos reactivos de antioxidantes naturais têm sido estudados mais aprofundadamente, nomeadamente fenóis e polifenóis, devido à ligação O–H, que é determinante na reacção destes compostos com os radicais livres.

A ligação de hidrogénio intermolecular do grupo fenólico é muito forte. A energia de dissociação desta ligação está dependente do número e do rearranjo dos grupos metoxilo no anel aromático.

Os fenóis são designados de arenos com um grupo hidroxilo num dos carbonos do anel. O pKa dos fenóis em solução situa-se no intervalo de valores entre 8 e 10, sendo menos ácidos do que os ácidos carboxílicos, com valores de pKa a variar entre 3 e 5. No entanto, os fenóis são mais ácidos que os álcoois, cujo pKa varia entre os valores de 16 e 18.

Uma consequência muito interessante do efeito mesomérico relaciona-se com a força ácido-básica dos fenóis. Por efeito de ressonância, o anel aromático é um híbrido de várias estruturas equivalentes. Esse fenómeno irá acarretar algumas consequências nestes compostos. O esquema abaixo mostra um exemplo de cada um destes compostos (fenol), descrevendo as possíveis estruturas de ressonância.

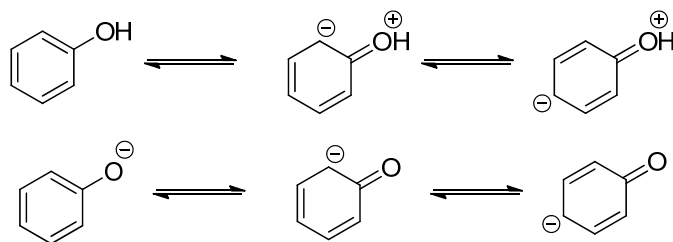


Figura 2. Estruturas de ressonância do fenol e ião fenóxido.

Os pares electrónicos não-ligantes do oxigénio participam da ressonância do anel aromático. Pelo efeito mesomérico os electrões são deslocados para o anel e, portanto, deixa a hidroxilo com défice electrónico. Isso leva a um enfraquecimento da ligação O–H, dando assim um carácter ligeiramente ácido aos fenóis [10–13].

Esta acidez dos fenóis é devido à estabilização por ressonância da base conjugada (ião fenóxido), que conduz à deslocalização da carga negativa do anel benzénico.

Sabendo que a ressonância é um importante factor de estabilidade química, quanto maior o número de estruturas possíveis de ressonância mais estável deverá ser a espécie. No entanto, um outro factor predomina nessa disputa: a *semelhança canónica* – quando as estruturas de ressonância são equivalentes. A presença ou ausência de grupos de indução numa espécie química poderá determinar uma força ácida mais ou menos intensa [2,4].

Com esta estabilização extra, os fenóis são um dos principais grupos de antioxidantes com capacidades para interromper a fase de propagação dos processos radiculares, devido às características estruturais que beneficiam a sua actividade antioxidante. Estas características são:

- os substituintes existentes na posição *orto*, geralmente volumosos, dado que diminuem a actividade do radical por impedimento estérico;
- Os grupos eletrodadores, através de dois efeitos, indutivo e de ressonância, na posição *para*, provocam a deslocalização do electrão desemparelhado [6,7].

Polifenóis encontram-se em plantas comestíveis e não-comestíveis, sendo importantes para o normal crescimento das plantas e defesa contra infecções e lesões [4]. Isto é, são metabolitos secundários de plantas, essenciais para a fisiologia vegetal, contribuindo para a sua pigmentação, crescimento, reprodução e resistência a patogénicos e predadores. Também são responsáveis pela acidez dos alimentos e de bebidas derivadas das plantas, bem como, pela oxidação dos mesmos produtos quando são produzidos ou armazenados [4].

Polifenóis dietéticos têm sido amplamente considerados como sendo benéficos para a saúde humana, exercendo diversos efeitos biológicos, tais como inibição de radicais livres, quelacção

de metais metálicos de transição pro-oxidantes, modulação da actividade enzimática, e alteração de vias de transdução de sinal [4].

Estudos epidemiológicos também destacaram a associação entre o consumo de alimentos e de bebidas ricas em polifenóis na prevenção de diversas doenças humanas [4]. Uma das razões é que esses estudos têm sido realizados com doses ou concentrações muito superiores aos documentados em humanos. Mais estudos com ambientes mais próximos ao do corpo humano são necessários para fornecer uma evidência clara dos efeitos protectores para a saúde e para melhor avaliar os riscos de uma eventual sobredosagem do consumo excessivo de polifenóis. A pesquisa sobre os seus efeitos na saúde começou mais recentemente devido à complexidade das suas estruturas químicas [4].

Os polifenóis são os antioxidantes mais abundantes na dieta e estão presentes em frutas, legumes, cereais, leguminosas secas, chocolate e bebidas, como chá, café ou vinho. Estudos experimentais em animais ou em culturas de células humanas mostram o papel dos polifenóis na prevenção de doenças cardiovasculares, cancro, doenças neurodegenerativas, diabetes e osteoporose. No entanto, é muito difícil prever os efeitos da ingestão de polifenóis na prevenção de doenças em seres humanos [4].

Os grupos fenólicos dos polifenóis podem aceitar um electrão para formar radicais fenoxilo relativamente estáveis, interrompendo assim as reacções de oxidação em cadeia, em componentes celulares. Os grupos catecol dos polifenóis, que apresentam nos anéis aromáticos dois grupos hidroxilo em posição *orto*, têm maior poder antioxidante do que os grupos fenólicos com um único grupo hidroxilo nos seus anéis aromáticos.

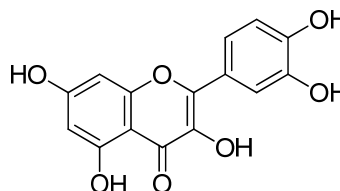
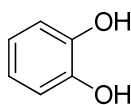


Figura 3. Estrutura do Catecol. **Figura 4.** Estrutura de um polifenol (quercetina).

1.3. α -Tocoferol

O Tocoferol, também conhecido como vitamina E, é uma das vitaminas mais ligadas à beleza e ao antienvhecimento, pois possui uma enorme importância na produção de energia para o organismo humano [14].

A Vitamina E é crucial para a manutenção de uma boa saúde e é um dos oxidantes mais bem recebidos por médicos e pacientes. Isso ocorre porque essa vitamina é capaz de demonstrar efeitos contra a destruição celular, bem como contra o envelhecimento corporal. Ela também é normalmente encontrada em multivitamínicos e fórmulas antioxidantes. Na sua forma natural, a Vitamina E é considerada a mais proveitosa. Além disso, ajuda na utilização da Vitamina K e estimula o organismo na defesa de membranas celulares contra os radicais livres, os quais são responsáveis por destruir essas membranas e por vários problemas de saúde. O Tocoferol ajuda a manter o bom funcionamento do sistema imunológico, o que contribui para uma boa saúde, sendo um antioxidante lipossolúvel [15,16].

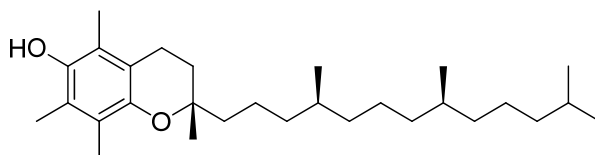
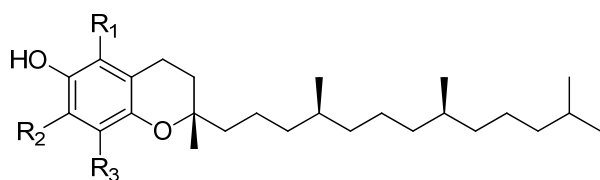


Figura 5. Estrutura do α -Tocoferol ou vitamina E.

Os tocoferóis com actividade de vitamina E compreendem duas séries de compostos com estruturas químicas diferentes, trienóis e tocóis, que se distinguem pelo grau de saturação da cadeia lateral. Pelo facto de serem lipossolúveis, os tocoferóis acumulam-se no interior das biomembranas, protegendo-as contra o processo de lipoperoxidação.



$R_1 = R_2 = R_3 = \text{CH}_3$ (α -Tocoferol)

$R_1 = R_2 = R_3 = \text{CH}_3$; $R_2 = \text{H}$ (β -Tocoferol)

$R_1 = \text{H}$; $R_2 = R_3 = \text{CH}_3$ (γ -Tocoferol)

$R_1 = R_2 = \text{H}$; $R_3 = \text{CH}_3$ (δ -Tocoferol)

Figura 6. Família de tocoferóis.

O α -tocoferol predomina nas membranas celulares; é um antioxidante mais eficaz do que os outros tocoferóis devido à posição *orto* dos seus grupos metilo, o que o torna um melhor doador de átomos de hidrogénio. No plasma sanguíneo, os tocoferóis são transportados por

lipoproteínas, principalmente as de baixa densidade. O α -tocoferol suprime e reage com o oxigénio singlete e sequestra os radicais superóxido e hidroxilo, bloqueando a peroxidação lipídica. Entretanto, a sua principal acção antioxidante nas membranas biológicas deve-se ao fato de interromper a fase de propagação da lipoperoxidação, doando um átomo de hidrogénio para os radicais peroxilo e alcóxilo, derivados da oxidação de ácidos gordos, interrompendo, assim, a cadeia radicalar. O radical tocoferilo é pouco reactivo e não oxida os ácidos gordos das membranas. Se o processo de lipoperoxidação for muito intenso, o α -tocoferol da membrana será convertido no radical tocoferilo, perdendo a sua capacidade antioxidante. Portanto, o radical tocoferilo deve ser regenerado por substâncias como o ácido ascórbico, glutathione reduzida ou ubiquinol, que o reduzem novamente a α -tocoferol.

Existem fontes variadas de Vitamina E na natureza e dentre as fontes alimentares mais ricas em Vitamina E estão os óleos vegetais de girassol, palma, soja, milho, soja, azeite e frutas no geral. Outros alimentos que contêm Vitamina E incluem nozes, semente de girassol, gérmen de trigo e kiwi, além de grãos integrais, peixes variados, leite de cabra e vegetais folhosos verdes [16,17].

A carência de Tocoferol (Vitamina E) ocorre geralmente em pessoas cujo organismo não é capaz de absorver a gordura na dieta alimentar, como, por exemplo, bebés que nascem prematuros e com pouco peso, ou adultos cujo metabolismo de gorduras se encontra em desordem, apesar de ser um caso raro a ser observado.

Na maior parte das vezes, a falta de Vitamina E produz no organismo humano problemas neurológicos, que afectam a comunicação nervosa. Nenhum dos sintomas causado pela falta desta vitamina é muito evidente, o que acaba por dificultar a detecção desta carência. Os sintomas costumam ser manchas na pele em tons acastanhados; porém, somente um exame de sangue é capaz de detectar um problema, definindo os níveis de Vitamina E existentes no organismo.

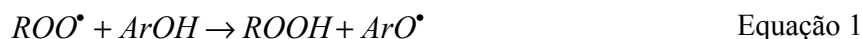
A deficiência de Tocoferol também pode resultar em anemia hemolítica, na qual os glóbulos vermelhos ficam frágeis e acabam por se romperem.



Figura 7. Carência de vitamina E nos glóbulos vermelhos. (imagem retirada de <http://saude-alternativa.blogspot.pt/2012/01/saiba-mais-sobre-anemia-e-remedios.html>)

1.4. Mecanismos De Actuação De Antioxidantes

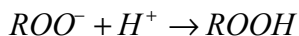
A Vitamina E e o Cromanol (composto homólogo da Vitamina E, mas sem a cadeia longa) são compostos fenólicos com propriedades importantes ao nível terapêutico e biológico, que desempenham um papel muito importante ao evitar o stress oxidativo de diversos substratos. Estes compostos fenólicos têm a capacidade de interromper a oxidação de substratos, ao reagirem com os radicais, transformando-se em radicais mais estáveis, e, por consequência, menos reactivos (persistentes). Esta inactivação dos radicais é acompanhada pela transferência de um átomo de hidrogénio (mecanismo HAT) do antioxidante para o radical, de acordo com a seguinte reacção química:



Conforme já foi referido anteriormente, o radical ArO^{\bullet} , como produto da reacção, tem de ser muito mais estável, energeticamente do que o radical reagente ROO^{\bullet} , para que o efeito antioxidante seja eficaz [18–21].

Um segundo mecanismo de antioxição pode ocorrer com perda de um protão e transferência de protão e electrão sequenciais (mecanismo SLEPT) e que pode ser descrito pelas seguintes equações:





Equação 4

O resultado da subtração da Equação 2 com o da Equação 4 é equivalente à Equação 1 para o mecanismo HAT. A determinação das grandezas termodinâmicas é muito importante para organizar o mecanismo de antioxição. A entalpia de dissociação da ligação O-H é indicador da capacidade antioxiante dos compostos fenólicos, já que quanto mais fraca for esta ligação, mais facilitado estará o mecanismo HAT [21].

1.5. Radicais Livres

A teoria que rege os radicais livres surgiu em 1954, com Denham Harmon, tendo sido o precursor da teoria do envelhecimento como consequência da acção dos radicais livres no organismo.

As moléculas são constituídas por átomos unidos através de ligações químicas formadas por um par de electrões. Quando as ligações químicas se rompem homoliticamente, cada fragmento molecular passa a conter um único electrão desemparelhado na sua orbital externa. Estes fragmentos, instáveis e reactivos, constituem os radicais livres. Portanto, o termo radical livre é frequentemente usado para designar qualquer átomo ou molécula com existência independente, contendo um ou mais electrões desemparelhados nas orbitais externas. Isto determina uma atracção para um campo magnético, o que pode torná-lo altamente reactivo, capaz de interagir com qualquer composto situado próximo à sua órbita externa, passando a ter uma função oxidante ou redutora de electrões [22–24].

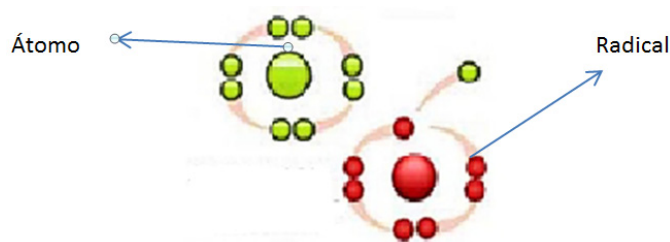


Figura 8. Exemplo da formação de um radical livre a partir de um átomo (imagem retirada de <http://valeriafisiodermato.blogspot.pt/2011/01/combata-os-radicais-livres.html>).

Os radicais livres actuam como catalisadores, ou pontes, para desencadear reacções químicas ou modificações em outras moléculas [25–28].

Cada radical livre é capaz de procurar uma espécie química, rompendo a sua ligação química para se agrupar. Nesta busca desenfreada por uma maior estabilidade energética, os radicais livres destroem enzimas, atacam células, causando danos estruturais e ocasionando o seu mau funcionamento ou até a destruição celular [29–32].

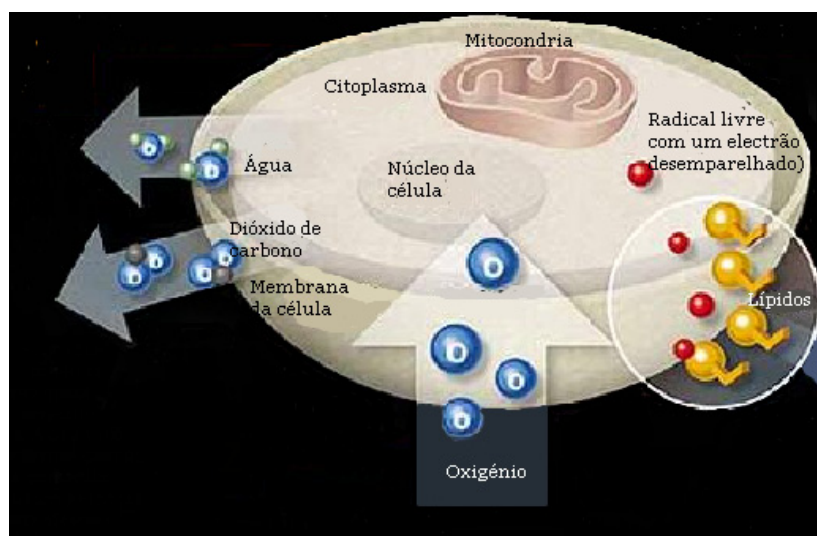


Figura 9. Exemplo da formação de radicais livres no interior de uma célula (imagem retirada de <http://bioquimicaenvelhecimento.blogspot.pt/2011/01/envelhecimento-relacionado-as.html>).

Esse electrão desemparelhado é muito instável e, na busca de estabilidade, tenta captar um electrão de outra espécie química. Porém, cada vez que uma proteína ou um lipídeo perde um electrão sofre transformações irreversíveis na forma e na função. Pela perda de um electrão, origina um novo radical livre, existindo assim uma espécie de reacção em cadeia. Devido à sua grande avides química, esta nova espécie metabólica reage com os principais constituintes celulares, e, por isso, são considerados agentes desgastantes da vida [31,32].

Os radicais livres podem ter origem em fontes exógenas, nas quais se incluem o tabaco, a poluição atmosférica, os solventes orgânicos, a dieta, os anestésicos, os pesticidas e as radiações gama e ultravioleta [22–24].

1.6. Métodos Termoquímicos

As questões formuladas e as descobertas realizadas no século XVIII, no âmbito da Química, revelaram-se de extrema importância para o impulsionamento da Química Moderna. Uma delas relaciona-se com a natureza do calor, tendo vários cientistas da época contribuído com o

seu conhecimento para tentar clarificar as dúvidas existentes, de que se destaca o nome de Antoine Laurent Lavoisier, químico francês, considerado por muitos cientistas como o fundador da Química Moderna [33,34].

No período 1782-1783, Antoine L. Lavoisier e Pierre-Simon Laplace (matemático e físico) construíram o primeiro calorímetro, o calorímetro de gelo, para medir a quantidade de calor libertada por um corpo quente, fazendo uso da medição do volume de um líquido resultante da transição de fase provocada pela transferência de calor. Estas experiências marcaram o nascimento da Termoquímica, e com ela a definição de calor como uma forma de energia, que está sempre associada a um fluxo inerente e a um gradiente de temperaturas. É o ramo da Química-Física que estuda os efeitos químicos caloríficos que acompanham as transformações físicas ou químicas. O seu objectivo é o de determinar a quantidade de energia absorvida ou libertada sob a forma de calor, durante uma transformação, assim como desenvolver métodos de cálculo do calor envolvido em tais movimentos, sem recorrer à experimentação. A quantidade de calor produzido pela queima de combustíveis, ou o valor calórico do alimento são exemplos bem conhecidos de dados termoquímicos [35–37].

A Termoquímica faz parte de uma ciência mais ampla, a Termodinâmica, no âmbito da qual são estudadas as relações entre o calor e outras formas de energia. Em linhas gerais, a Termoquímica estuda fundamentalmente variações de energia associadas a transformações químicas (reações de formação, de atomização, de combustão, de hidrogenação, de dissolução, entre outras) e a transições de fase. Associada a esta ciência surge, frequentemente, a calorimetria no contexto da qual se procede à medição de quantidades de calor absorvidas ou libertadas durante uma transformação [35–37].

A Primeira Lei da Termodinâmica (PLT) pode ser enunciada por:

“Há conservação da energia total do universo, sendo o calor uma forma de energia”. A aplicação desta lei conduz, imediatamente, às leis fundamentais da Termoquímica:

1. Lei de Lavoisier e Laplace – a uma dada temperatura e pressão, a energia necessária para decompor um composto nos seus elementos é exactamente igual e de sinal contrário à libertação de energia do processo inverso;
2. Lei de Hess – a quantidade de calor libertada ou absorvida numa reacção química, executada a pressão ou volume constantes, é a mesma, qualquer que seja o caminho real ou hipotético, seguido pela reacção.

A utilidade da Lei de Lavoisier e Laplace manifesta-se, particularmente, no estudo da ligação química, enquanto a Lei de Hess permite obter, por cálculo, calores de reacção não acessíveis

experimentalmente (nas hipóteses admitidas, pressão ou volume constantes, são idênticos as variações de entalpia ou energia interna, respectivamente).

Na evolução cronológica da Termoquímica, muitos são os cientistas que contribuíram de forma significativa para a sua evolução, entre os quais se podem referir nomes como Lavoisier, Laplace, Bunsen, Pouillet, Berthelot, Junkers ou Skinner que, ao desenvolverem calorímetros relativamente simples permitiram, na sua época, demonstrar os princípios básicos da medição de calor, podendo até ser considerados como os precursores de alguns aparelhos mais específicos e elaborados [34–37].

1.6.2. Princípio de Thomsen e Berthelot

Há um princípio fundamental da Termoquímica, determinado em 1867 pelos cientistas que lhe deram seus nomes, que afirma:

"Dentre um conjunto de reacções químicas possíveis ocorrerá primeiro, espontaneamente, aquela que for mais exotérmica."

A reacção exotérmica é aquela que libera maior quantidade de energia na forma de calor. Isto significa que os produtos formados nesse tipo de reacção são menos energéticos, portanto, mais estáveis. Espontaneamente, as substâncias só irão reagir em busca de maior estabilidade e, desse modo, em busca de liberar a maior quantidade possível de energia. O calor de reacção pode ser medido a volume constante, num calorímetro hermeticamente fechado, ou à pressão constante, num calorímetro aberto. Experimentalmente, verifica-se que existe uma pequena diferença entre esses dois tipos de medidas calorimétricas. Essa diferença ocorre porque, quando uma reacção ocorre à pressão constante, pode haver variação de volume e, portanto, envolvimento de energia na expansão ou contracção do sistema [34–37].

A variação de energia determinada a volume constante é chamada de variação de energia interna, representada por ΔE , e a variação de energia determinada à pressão constante é chamada de variação de entalpia, representada por ΔH .

Um dos primeiros e mais profundos estudos na termoquímica iónica em fase gasosa foi a determinação da acidez e da basicidade em fase gasosa. Estas determinações captaram a atenção dos químicos de fase condensada, que, a partir destes resultados, concluíram que os dados determinados em fase gasosa permitiam separar os efeitos electrónicos moleculares intrínsecos dos efeitos de solvente [38–41].

1.7. Entalpia E Variação De Entalpia

O calor é uma forma de energia e, segundo a Lei da Conservação da Energia, ela não pode ser criada nem destruída, pode apenas ser transformada de uma forma para outra. Desta forma é de concluir que:

- a energia liberada por uma reacção química não foi criada, ela já existia antes, armazenada nos reagentes, sob uma outra forma;
- a energia absorvida por uma reacção química não se perdeu, ela permanece no sistema, armazenada nos produtos, sob uma outra forma.

Cada substância, portanto, armazena um certo conteúdo de calor, que será alterado quando a substância sofrer uma transformação. A liberação de calor pela reacção exotérmica significa que o conteúdo total de calor dos produtos é menor do que o dos reagentes. Inversamente, a absorção de calor por uma reacção endotérmica significa que o conteúdo total de calor armazenado nos produtos é maior do que o dos reagentes.

À energia armazenada nas substâncias (reagentes ou produtos) dá-se o nome de conteúdo de calor ou entalpia (H). Numa reacção, a diferença entre as entalpias dos produtos e as dos reagentes corresponde à variação de entalpia (ΔH)

1.8. Factores Que Influenciam O Valor Da Variação De Entalpia

O valor da variação de entalpia, ΔH , de uma reacção química está sujeito a variações conforme mudem as condições em que a reacção foi realizada. Sendo que os factores que influenciam ΔH são:

1.8.2. Temperatura

O valor de ΔH varia sensivelmente com a temperatura em que se deu a reacção. Se uma reacção ocorre a uma temperatura X , obtém-se ΔH_X . Se essa mesma reacção ocorrer a uma temperatura $Y > X$, por exemplo, obtém-se um ΔH_Y diferente de ΔH_X . Isso ocorre porque a quantidade de calor necessária para elevar a temperatura dos reagentes de X até Y é diferente da quantidade de calor necessária para elevar a temperatura dos produtos de X até Y .

1.8.2. Pressão

O valor de ΔH numa reacção envolvendo substâncias sólidas e líquidas praticamente não varia com a mudança de pressão. No caso de reacções que envolvem substâncias gasosas, o valor de ΔH começa a variar de modo significativo para pressões de ordem de 1000 atm. Como as reacções normalmente são feitas sob pressão atmosférica normal (1 atm.), não é necessário levar em conta a variação no valor de ΔH com a pressão.

1.8.2. Quantidade de reagentes e produtos

A quantidade de calor envolvida numa reacção química é proporcional à quantidade de reagentes e produtos que participam da reacção. Se, por exemplo, a quantidade de reagentes e produtos for dobrada, a quantidade de calor necessária para completar este sistema será o dobro.

1.8.2. Fase de agregação

A energia das substâncias aumenta progressivamente à medida que elas passam da fase sólida para a líquida e desta para a gasosa. A energia da fase sólida é menor do que a energia da fase líquida, e esta menor energia tem menor valor do que a da fase gasosa.

1.8.2. Variedade alotrópica

Entre as formas alotrópicas de um mesmo elemento há aquela mais estável e, portanto, menos energética, e também a menos estável, portanto, mais energética.

Partindo-se do reagente na forma alotrópica mais estável (menos energética) obtém-se menor quantidade de energia libertada na reacção. Por outro lado, se se partir do mesmo reagente, mas na forma alotrópica, menos estável (mais energética), obtém-se uma maior quantidade de energia libertada na reacção.

1.8.2. Presença de solvente

Quando dissolvemos uma determinada substância num solvente qualquer, ocorre liberação ou absorção de energia na forma de calor. Assim, se fizermos uma reacção na ausência de um solvente, o valor de ΔH será diferente do obtido quando se realiza a mesma reacção na presença de um solvente.

1.9. Determinação Indirecta Do Calor De Reacção

Existem processos indirectos para a determinação da variação de entalpia de uma reacção. Sendo a variação de entalpia ΔH de uma reacção a diferença entre as entalpias dos produtos e reagentes, é descrita da seguinte forma:

$$\Delta H = H_P - H_R \quad \text{Equação 5}$$

Portanto, se forem conhecidas as entalpias absolutas das substâncias, é possível determinar, com facilidade, a variação de entalpia associada a qualquer reacção. Como isto é impossível, pois apenas a diferença das entalpias dos produtos e reagentes pode ser medida, os químicos resolveram atribuir, arbitrariamente, a um grupo de substâncias um determinado valor de entalpia e, a partir disso, construir uma escala relativa de entalpias das demais substâncias.

Assim, atribuiu-se às variedades alotrópicas mais estáveis das substâncias simples, a 25° C e 1 atm, entalpias iguais a zero. Essas condições experimentais são chamadas de condições padrão ou estado padrão, e a entalpia, determinada nessas condições, é a entalpia padrão. A entalpia padrão é representada por H^0 .

A entalpia padrão de uma substância qualquer pode ser calculada tomando-se como referência a variação de entalpia da reacção de formação, também chamada de entalpia de formação, dessa substância a partir de seus elementos, no estado padrão.

Calor de formação ou entalpia de formação é o nome dado à variação de entalpia associada à formação de um mol de uma substância a partir de seus elementos constituintes, na forma de substâncias simples mais estável e no estado padrão.

A entalpia de formação é representada por ΔH_f^0 .

Conhecendo-se as entalpias padrão das substâncias, a variação de entalpia de uma reacção pode ser determinada com facilidade.

1.10. Métodos Ab-Initio

A procura de informação termoquímica está a crescer a um ritmo muito mais elevado do que a possibilidade de efectuar novas medições. Com os constantes avanços de hardware de computadores, o que provoca um crescente melhoramento do próprio software, bem como uma evolução ímpar nas teorias da estrutura electrónica, os cálculos computacionais têm-se tornado cada vez mais atractivos e acessíveis.

Os estudos de relações lineares de energia livre têm tido um impacto bastante pronunciado no desenvolvimento da química – física, particularmente na sua vertente orgânica. Embora uma grande parte destes estudos tenha sido realizada em fase condensada, estudos equivalentes em fase gasosa têm-se tornado numa importante área de investigação, uma vez que permitem a determinação de propriedades moleculares intrínsecas de espécies iónicas e moleculares, sem interferência do solvente [42].

Com o aumento contínuo da disponibilidade de computadores sofisticados, os métodos da mecânica quântica, como os métodos *ab-initio* e semi-empíricos, têm demonstrado ser ferramentas importantes na investigação da estrutura e reactividade tanto de moléculas neutras como de espécies iónicas [43].

O uso de métodos *ab-initio* (do latim “do início”) está restrito a sistemas com dimensões reduzidas devido aos longos períodos de cálculos requeridos. Deste modo, foi necessário arranjar processos alternativos para estudar as propriedades de moléculas grandes e desta necessidade nasceram os métodos semi-empíricos.

Os métodos *ab-initio* tentam derivar a informação resolvendo a equação de Schrödinger sem ajustar parâmetros aos dados experimentais. Na verdade, estes métodos empregam dados experimentais de uma forma subtil, comparando os diferentes métodos de resolução da equação de Schrödinger com dados experimentais conhecidos. Os dados experimentais guiam, desta forma, a selecção do modelo computacional, em vez de fazerem parte do procedimento computacional.

Para o estudo de mecanismos de reacção, estes métodos apresentam-se como uma ferramenta extremamente útil, uma vez que é possível utilizá-los para estimar propriedades cinéticas e termodinâmicas, bem como na investigação da estrutura e reactividade de possíveis intermediários do sistema reactivo e estados de transição [42].

Os métodos *ab-initio* propõem-se prever as propriedades de sistemas atómicos e moleculares, usando, para isso, as leis fundamentais da mecânica quântica e algumas constantes físicas universais, tais como massa e carga do electrão, constante de Planck, entre outras. A densidade electrónica é definida como o quadrado da função de onda integrada sobre $(n-1)$ coordenadas electrónicas. Portanto, a densidade electrónica depende somente de três coordenadas, independentemente do número de electrões, ou seja, enquanto a complexidade de função de onda aumenta com o número de electrões, a densidade electrónica apresenta o mesmo número de variáveis [42].

Abordagens *ab-initio* são muito bem-sucedidas ao gerar valores confiáveis de afinidades de prótons e basicidade em fase gasosa de moléculas pequenas, mesmo em níveis mais baixos da

teoria. No entanto, esta situação ainda não é possível ser aplicada a moléculas de maiores dimensões [44].

1.10.1. Teoria do funcional da densidade

A proposta da Teoria do Funcional de Densidade (DFT) permite obter as propriedades do estado fundamental das moléculas sem a necessidade da função de onda multieletrónica. Para isso, Hohenberg e Kohn demonstraram a importância da densidade electrónica para esse propósito [45]. A vantagem do uso da densidade electrónica ao invés da função de onda está na redução considerável da dimensão do problema. A função de onda para n electrões contém $3n$ variáveis (três para cada electrão) mais a parte de spin. A densidade electrónica é definida como o quadrado da função de onda integrada sobre $(n-1)$ coordenadas electrónicas. Portanto, a densidade electrónica depende somente de três coordenadas, independentemente do número de electrões, ou seja, enquanto a complexidade da função de onda aumenta com o número de electrões, a densidade electrónica tem sempre o mesmo número de variáveis. Contudo, a obtenção de um funcional que una precisamente a densidade electrónica à energia não é conhecida, sendo necessária uma série de aproximações, dando origem a diversos métodos baseados nesta teoria [46].

1.10.2. Teorema de Hohenberg-Kohn

Para estabelecer a dependência da densidade com a energia, dois importantes teoremas estabelecidos por Hohenberg-Kohn foram fundamentais [47]. O primeiro estabelece que existe uma relação unívoca entre todas as energias, incluindo a energia total, e a densidade, ou seja, a energia é um funcional da densidade electrónica: $E = E(\rho(\vec{r}, x))$. O segundo teorema estabelece que, semelhantemente ao que acontece com a teoria das orbitais moleculares para a função de onda, o funcional de densidade electrónica também obedece ao formalismo do princípio variacional, ou seja, para uma densidade electrónica aproximada $\rho'(\vec{r}, X)$ obtida pela integração sobre o número total de electrões, $\int \rho'(\vec{r}, X) d\vec{r} = N$, a energia dada por essa densidade é sempre maior ou igual à energia obtida usando o funcional de densidade exacto: $E_0[\rho'(\vec{r}, X)] \geq E_0[\rho(r, X)]$, onde a notação X corresponde a um conjunto de configurações nucleares, uma vez que a densidade electrónica na região de núcleo tende a zero.

1.10.3. As equações de Kohn-Sham

A equação geral de Kohn-Sham (KS) para a energia electrónica para o estado fundamental, obtida segundo a DFT, pode ser escrita pela Equação 6:

$$E[\rho(\vec{r}, X)] = \int U^{ext} d\vec{r} + F[\rho(\vec{r}, X)] \quad \text{Equação 6}$$

onde, U^{ext} é o potencial externo e $F[\rho(\vec{r}, X)]$ é o funcional da densidade (dito como funcional universal) que é independente do potencial externo. Esses dois termos representam o desafio principal do formalismo DFT: o potencial externo precisa de ser calculado e a representação analítica para o funcional $F[\rho(\vec{r}, X)]$ ainda não é conhecida.

O potencial externo pode ser determinado a partir da densidade, para então definir o Hamiltoniano e, deste, a função de onda. Aparentemente o formalismo DFT é tão complicado quanto o formalismo utilizando orbitais moleculares para sistemas multieletrónicos. O sucesso do formalismo DFT provém da proposta de KS onde o funcional de energia cinética passou a ser calculado usando o mesmo formalismo do método HF, ou seja, aplicando o conceito de partículas independentes, onde temos a semelhança entre as equações do formalismo HF e DFT. Dessa forma, a energia cinética total é representada pela soma das energias cinéticas dos electrões individuais e o hamiltoniano total é representado pela soma de operadores de Fock para um electrão. Com isso, semelhantemente ao método HF, aproximadamente 95% da energia exacta é incluída na energia total, sendo a energia de correlação electrónica considerada nos termos do DFT como sendo a energia de troca e correlação. Portanto a expressão geral para a energia DFT é a seguinte:

$$E_{DFT}[\rho(\vec{r}, X)] = T[\rho(\vec{r}, X)] + U_{nc}[\rho(\vec{r}, X)] + U_{cc}[\rho(\vec{r}, X)] + U_{xc}[\rho(\vec{r}, X)] \quad \text{Equação 7}$$

onde $T[\rho(\vec{r}, X)]$ é o funcional de energia cinética dos electrões, $U_{nc}[\rho(\vec{r}, X)]$ e $U_{cc}[\rho(\vec{r}, X)]$ são os funcionais de energia potencial de atracção electrão-núcleo e repulsão electrão-electrão, respectivamente, e $U_{xc}[\rho(\vec{r}, X)]$ é o potencial de troca e correlação. Os três primeiros termos da Equação (7) podem ser obtidos classicamente, enquanto que o potencial de troca e correlação é definido, no formalismo de KS, como a derivada funcional da energia de troca e correlação:

$$U_{xc}[\rho(\vec{r}, X)] = \frac{\partial E_{xc}[\rho(\vec{r}, X)]}{\partial \rho(\vec{r}, X)} \quad \text{Equação 8}$$

O maior problema dos métodos DFT é obter uma representação adequada para o potencial de troca e correlação. Embora exista uma grande variedade de métodos e técnicas para a representação aproximada deste termo, nenhum se compara ao método de Slater [48].

Uma vez conhecido o termo de troca e correlação, o procedimento para obtenção da energia é semelhante ao utilizando pelo método HF, ou seja, os coeficientes de um conjunto de orbitais ortogonais, chamado de orbitais de KS, são otimizados de modo a minimizar a energia total. Esses orbitais, inicialmente desconhecidos, podem ser determinados numericamente ou expandidos num conjunto de funções de base, de forma análoga ao que acontece no formalismo do método HF.

É importante mencionar que as orbitais de KS não possuem o mesmo significado que as orbitais provenientes do método HF. Isso só seria verdade se o funcional de troca e correlação fosse exacto [49].

Portanto, a partir do conjunto de orbitais é possível definir um conjunto de equações para o método de KS, as quais são resolvidas de forma iterativa, usando um procedimento de campo auto coerente, SCF, conforme a Equação (9):

$$\hat{H}_{KS}\phi_i = \varepsilon_i\phi_i \quad \text{Equação 9}$$

1.10.4. Os funcionais híbridos

Como mostrado anteriormente, a incorporação da correlação electrónica nas equações de Kohn-Sham faz surgir um potencial de troca-correlação desconhecido. Com relação a esse facto, é importante mencionar os notáveis trabalhos desenvolvidos por Becke, Perdew, Lee e Parr no tratamento do potencial de troca correlação [50]. Esses funcionais constituem-se em aproximações e a elaboração de novos funcionais é ainda uma área de pesquisa de grande interesse dos pesquisadores [51].

De acordo com Ziegler [52], os funcionais de troca-correlação foram classificados em três gerações. A primeira geração é dos funcionais baseados na Aproximação da Densidade Local (*LDA – Local Density Approximation*). Essa aproximação envolve o funcional de troca de Dirac baseado no modelo atómico de Thomas-Fermi-Dirac [53]. Para a energia de correlação,

algumas parametrizações foram propostas no início da década de 70. Porém, só as fórmulas propostas na década de 80 são consideradas importantes nesse nível de aproximação [54,55].

A segunda geração de funcionais faz uso da densidade electrónica e do seu gradiente. Essa aproximação é usualmente denominada Aproximação do Gradiente Generalizada (*GGA – Generalized Gradient Approximation*). Os funcionais mais populares de uso corrente são aqueles desenvolvidos por Becke para a troca [56], Perdew para a correlação [57] e Lee também para correlação [58], Perdew e Wang desenvolveram funcionais de troca e correlação [59].

A terceira geração faz uso de funcionais híbridos que contém na sua formulação funcionais GGA de troca e correlação que inclui uma contribuição vinda do método Hartree-Fock. Como referência, podemos citar um dos funcionais híbridos mais utilizados em cálculos DFT, que é o funcional B3LYP. Esse funcional contém um termo de troca desenvolvido por Becke (indicado pela letra *B*) otimizado com três parâmetros empíricos (indicado pelo índice 3) e um termo de correlação desenvolvido por Lee, Yang e Parr (indicado pela sigla *LYP*).

Abordagens ab-initio são muito bem sucedidas ao gerar valores confiáveis de afinidades de protões e basicidade em fase gasosa de moléculas pequenas, mesmo em níveis mais baixos da teoria. No entanto, esta situação ainda não é possível ser aplicada a moléculas de maiores dimensões. O recente progresso nas abordagens da Teoria do Funcional de Densidade (DFT) ajudaram a melhorar os cálculos de afinidade electrónica; no entanto, para a maioria das situações, é ainda não testado. A vantagem dos métodos DFT, é o facto de estes incluírem a energia de correlação electrónica através da utilização de potenciais de correlação/troca, enquanto a abordagem Hartree-Fock, por definição não inclui esta componente de energia. O ponto fraco dos métodos DFT é a forma matemática exacta da correlação. Os métodos computacionais são menos exigentes do que os métodos ab-initio.

O presente trabalho foi desenvolvido mediante o uso de cálculos de estrutura electrónica através dos métodos ab-initio e a teoria do funcional da densidade (DFT) [59] para obtenção das estruturas de mínimos das diversas estruturas que compõem este estudo.

BIBLIOGRAFIA

- [1] A. C. da Silva; N. Jorge, *UNOPAR Cient. Ciênc. Biol. Saúde*, **2011**, 13, 375.
- [2] E. M. Marinova, NV. Yanishlieva, *Eur J Lipid Sci Technol*, **1992**, 94, 428.
- [3] G. Spigno, L. Tramelli, D. M. De Faveri, *J. Food Eng.*, **2007**, 81, 200.
- [4] S. I. P. Santos, *Estudos de Actividade Inibidora de Acetilcolinesterase e Actividade Antioxidante por Derivados de Colina de Ácidos Cafeico, Cinâmico, e Rosmarínico Metabolismo in Vitro Destes Compostos*, Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Portugal, **2009**.
- [5] J. Rocha, *Aditivos & Ingredientes*, **2008**, 56.
- [6] L. R. de Queiroz, *Síntese e estudo da eficiência antioxidante de novos aditivos aplicados a combustíveis*, Univ. Fed. Rio Grande do Sul, Natal, Brasil, **2004**.
- [7] C. F. Conte, *Estabilidade Oxidativa de Granulado de Castanha-do-Pará*, Universidade Estadual de Campinas, Brasil, **2010**.
- [8] D. Armstrong, *Free Radical and Antioxidant Protocols*, Humana Press, New york, **1998**, 108
- [9] L. Packer, M. G. Traber, K. Kramer, B. Frei, *The Antioxidant Vitamines C and E*, **2002**, AOCS Press, Santa Barbara, USA, **2002**.
- [10] <http://bioradicaibio.blogspot.pt/2009/07/antioxidantes.html> (acedido em 16/08/2012).
- [11] C.A. Rice-Evans, N. J. Miller, P. G. Bolwell, P. M. Bramley, J. B. Pridham, *Free Rad. Res.*, **1995**, 22, 375.
- [12] <http://www.fortitech.com/research/antioxidant-science-unique-and-therapeutic-properties-of-tocotrienols/> (acedido a 16/08/2012).
- [13] R. R. Watson, V. R. Preedy, *Tocotrienols Vitamin e Beyond Tocopherols*, AOCS Press, Boca Raton, USA, **2008**.
- [14] K. Gohil, L. Rothfuss, J. Lang, L. Packer, *J. Appl. Physiol.*, **1987**, 63, 1638.
- [15] J. A. Howard, *Free Radicals*, Wiley-Interscience, New York, **1975**, 2, Cap. 12.
- [16] A Vitamina E Tocoferóis e Tocotrienóis, *Aditivos & Ingredientes*, **2010**, 41.
- [17] T. A. Halgren, *J. Comput. Chem.*, **1996**, 17, 490.
- [18] C. A. Rice-Evans, R. H. Burdon, *Free Radical Damage and Its Control*, Elsevier, Amsterdam, The Netherlands, **1994**, 28.
- [19] C. J. Jodicke, H. P. Luthi, *J. Chem. Phys.*, **2002**, 117, 4146.
- [20] P. Lehtovuori, H. Joela, *Phys. Chem. Chem. Phys.*, **2002**, 4, 1928.

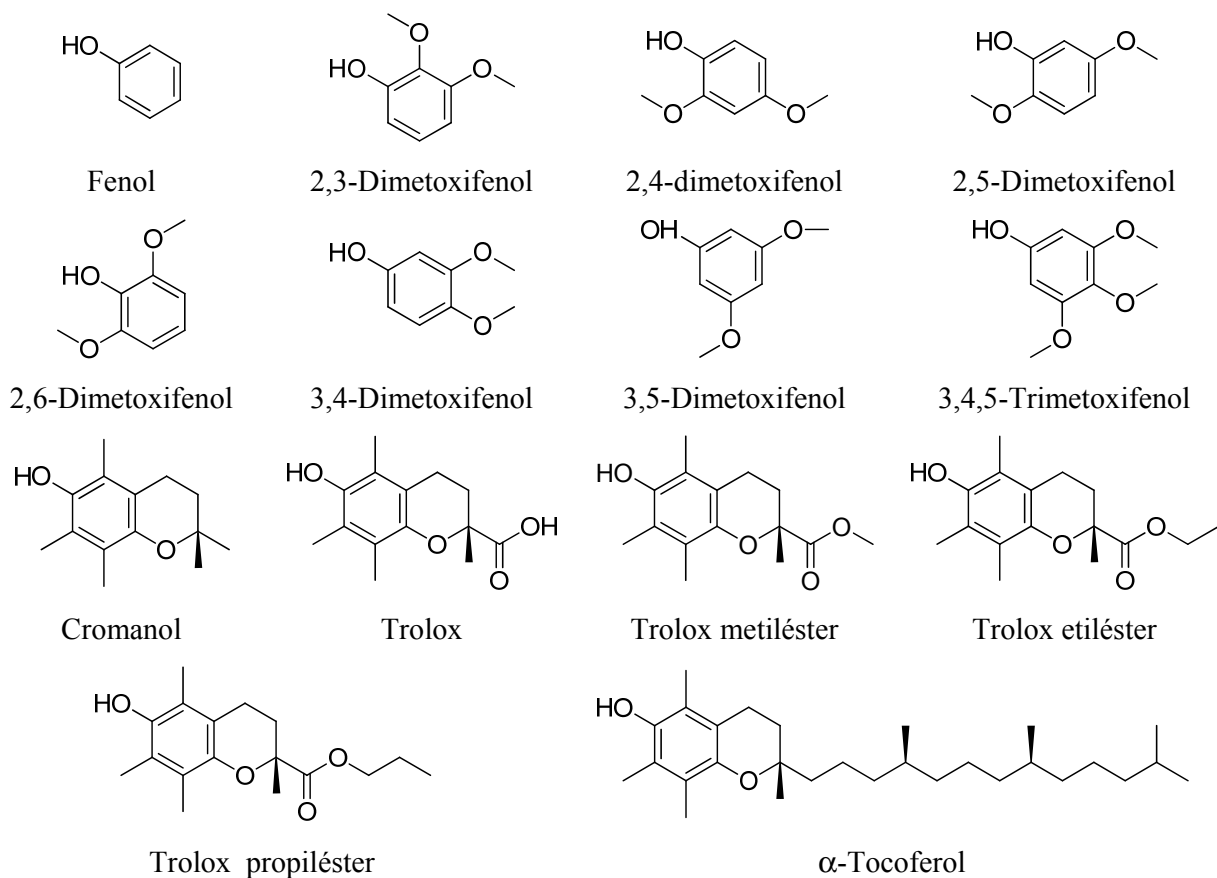
- [21] P. J. Amorim Madeira, M. Faddoul, M. B. Afonso, P. D. Vaz, M. T. Fernandez, J. P. Leal, *J. Mass Spectrom.*, **2011**, 46, 640.
- [22] <http://pt.knowledger.de/07037194/Radical%28quimica%29> (acedido em 16/08/2012)
- [23] D. Xiao-Hui, L. Ze-Rong, L. Xiang-Yuan, L. Liu-Ming, *J. Chem. Phys.*, **2004**, 120, 10025.
- [24] J. Belicanta, *Homopolimerização e Copolimerização Via Radical Livre Controlada por Radicais Nitróxidos*, Universidade Estadual de Campinas, Brasil, **2008**.
- [25] B. Pereira, *Motriz*, **1996**, 2, 71.
- [26] A. Miller, P. H. Solomon, *Writing Reaction Mechanisms In Organic Chemistry*, **2000**, Academic Press, New York.
- [27] M. Agostinha R. Matos, Margarida S. Miranda, Victor M. F. Morais, *J. Chem. Eng.*, **2003**, 48, 669.
- [28] W. Cao, W. Chen, S. Sun, P. Guo, J. Song, *J. Mol. Struct.*, **2007**, 817, 1.
- [29] W. J. Chen, J. R. Song, P. Guo, Z. Y. Wen, *J. Mol. Struct.*, **2006**, 763, 161.
- [30] http://www.spq.pt/boletim/docs/boletimSPQ_100_066_28.pdf (acedido em 16/08/2012).
- [31] S. C. G. Estácio, *Ligações de Hidrogénio: Estudo de Alguns Aspectos Energéticos, Electrónicos e Dinâmicos por Primeiros Princípios*, Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Portugal, **2008**.
- [32] R. C. Silva, A. A. Goncalves, *Ciência Rural*, **2010**, 40, 994.
- [33] A. M. M. V. Reis, *Termoquímica de Dialquilditiocarbamatos*, Universidade do Porto, Portugal, **1986**.
- [34] M. N. M. M. Miranda, *Reciclagem Termoquímica de Resíduos de Plásticos e de Pneus por Pirólise*, Universidade de Aveiro, **2009**.
- [35] V. L. S. Freitas, *Termoquímica de Compostos Azotados*, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, **2007**.
- [36] M. S. Miranda, *Estudo Termoquímico Experimental e Teórico de Compostos Aromáticos Homocíclicos e Heterocíclicos*, Faculdade de Ciências da Universidade do Porto, **2000**.
- [37] J. A. M. Simões, *Colóquio-Ciências*, **1993**, 13, 23.
- [38] M. J. S. Dewar, E. G. Zebisch, E. F. Healy, J. J. P. Stewart, *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, 107, 3902.
- [39] R. Amorati, A. Cavalli, M. G. Fumo, M. Masetti, S. Menichetti, C. Pagliuca, G. F. Pedulli, C. Viglianisi, *Chem. Eur. J.*, **2007**, 13, 8223.
- [40] C. Peng, P. Y. Ayala, H. B. Schlegel, M. J. Frisch, *J. Comput. Chem.*, **1996**, 17, 49–56.

- [41] R. Amorati, S. Menichetti, E. Mileo, G. F. Pedulli, C. Viglianisi, *Chem. Eur. J.*, **2009**, *15*, 4402.
- [42] A. M. Pereira, *Estudo Ab-initio e DFT das Nitrosaminas*, Universidade Federal da Paraíba, Brasil, **2008**.
- [43] Pesquisa realizada utilizando Google Scholar (<http://scholar.google.-com>) dos artigos contendo os termos “*DFT polyphenols*” ou “*DFT phenol BDE*” mostrou que nos últimos sete anos o número de publicações contendo aqueles termos teve um incremento de 5 a 10 vezes, respectivamente.
- [44] T. Guerra, *Estudo por Teoria do Funcional da Densidade da Absorção do 2,4 Trinitrotolueno Sobre a Superfície de Óxido de Magnésio*, Instituto Militar de Engenharia do Rio de Janeiro, **2011**.
- [45] W. Koch, M. C. Holthausen, *A Chemist's Guide to Density Functional Theory*, Wiley-VCH, Weinheim, **2000**.
- [46] I. N. Levine, *Quantum Chemistry*, Prentice Hall, New Jersey, **2000**.
- [47] P. Hohenberg, W. Kohn, *Phys. Rev. B*, **1964**, *136*, 864.
- [48] R. G. Parr, W. Yang *Density Functional Theory. s.l.*, Oxford University Press, Oxford, **1989**.
- [49] E. J. Baerends, D. E. Ellis, P. Ros, *Chem. Phys. Lett.*, **1973**, *2*.
- [50] P. Geerlings, F. Proft, E. Langenaeker, *Chem. Rev.*, **2003**, *103*, 1793.
- [51] H. Chemette, *Coord. Chem. Rev.*, **1998**, *699*, 178.
- [52] T. Ziegler, *Can. J. Chem.*, **1995**, *73*, 743.
- [53] P. A. Dirac, *Proc. Cambridge Philos. Soc.*, **1930**, *26*, 376.
- [54] S. J. Vosko, E. Nusair, *M. Can. J. Phys.*, **1980**, *58*, 1200.
- [55] J. P. Perdew, A. Zunger, *Phys. Rev. B.*, **1981**, *23*, 5048.
- [56] A. D. Becke, *Phys. Rev. A.*, **1988**, *38*, 3098.
- [57] J. P. Perdew, *Phys. Rev. B.*, **1986**, *33*, 8822.
- [58] C. Lee, W. Yang, R. G. Parr, *Phys. Rev. B.*, **1988**, *37*, 785.
- [59] J. P. Perdew, Y. Wang, K. Burke, *Phys. Rev. B.*, **1996**, *54*, 16553.

CAPÍTULO II: RESULTADOS E DISCUSSÃO

2. INTRODUÇÃO

No âmbito da presente tese, pretendeu-se realizar um estudo teórico recorrendo a métodos DFT de propriedades estruturais e electrónicas de compostos fenólicos que se podem considerar homólogos do α -tocoferol (vitamina E) [1]. Estes compostos fazem parte de um conjunto alargado que contempla alguns derivados do fenol – 2,3-dimetoxifenol, 2,4-dimetoxifenol, 2,5-dimetoxifenol, 2,6-dimetoxifenol, 3,4-dimetoxifenol e 3,4,5-trimetoxifenol – e do cromanol – cromanol, trolox, trolox metiléster, trolox etiléster, trolox propiléster e α -tocoferol – cujas estruturas estão representadas no Esquema I.



Esquema 1. Representação das estruturas dos compostos estudados.

A escolha deste conjunto de compostos aromáticos fenólicos permite analisar a possível influência dos substituintes com vista à interpretação da origem da actividade antioxidante do α -tocoferol [2]. Dado que os substituintes apresentam diversos graus de liberdade, tal traduz-se num número de possíveis isómeros conformacionais, que poderão ter influência nessa

mesma actividade. Para isso, foi realizado um estudo sistemático por meio de cálculos DFT para a maioria dos compostos para aferir a conformação mais estável em cada um deles. Esta abordagem foi replicada em cada um dos compostos apresentados no Esquema I para as formas neutra, aniónica e radicalar. As conformações de partida dos compostos 3,4,5-trimetoxifenol, cromanol, trolox e α -tocoferol foram retiradas da base de dados cristalográfica *Cambridge Structural Database*, pelo que se assumiu que essas conformações representam as mais estáveis em cada um deles.

Os cálculos de DFT foram realizados ao nível de teoria B3LYP/6-11++G(2d,2p) utilizando critérios de convergência bastante apertados, utilizando o pacote computacional *Gaussian 03*. O estudo conformacional teve por objetivo determinar a conformação mais estável de modo a prever com fiabilidade os valores de entalpia de formação dos aniões e radicais a partir de cada composto na sua forma neutra, por abstração do átomo de H fenólico por cisão hetero e homolítica, respetivamente. Globalmente, esta abordagem permitiu analisar desde factores estruturais, como a existência (ou não) de ligações de hidrogénio intramoleculares e respetivas ordens de ligação de Wiberg, até à termoquímica envolvida na formação de aniões e radicais, a partir dos fenóis neutros.

2.1. Análise Estrutural

2.1.1. Compostos neutros

Tal como descrito anteriormente, a primeira abordagem consistiu na análise conformacional das estruturas dos compostos em estudo. Desta forma, conforme evidenciado no Esquema I, os compostos foram agrupados em duas famílias – a primeira designada por *F*, correspondendo aos compostos derivados do fenol e a segunda designada por *C*, compreendendo os restantes compostos derivados do cromanol.

Para as formas neutras, verificaram-se diversas características interessantes em ambas as famílias de compostos. Por exemplo, verificou-se que o grupo hidroxilo apresenta uma conformação coplanar com o anel aromático. Este resultado está de acordo com descrições anteriores encontradas na literatura. [3,4,5]. Ao contrário, na família *F*, os substituintes metoxilo podem ou não apresentar coplanaridade com o anel aromático. Tal facto deriva de duas situações. Nos casos em que estes grupos estão envolvidos em ligações de hidrogénio, como doadores ou como aceitadores, não são coplanares, ao passo que se não estiverem envolvidos naquele tipo de interacções intramoleculares a sua conformação é coplanar.

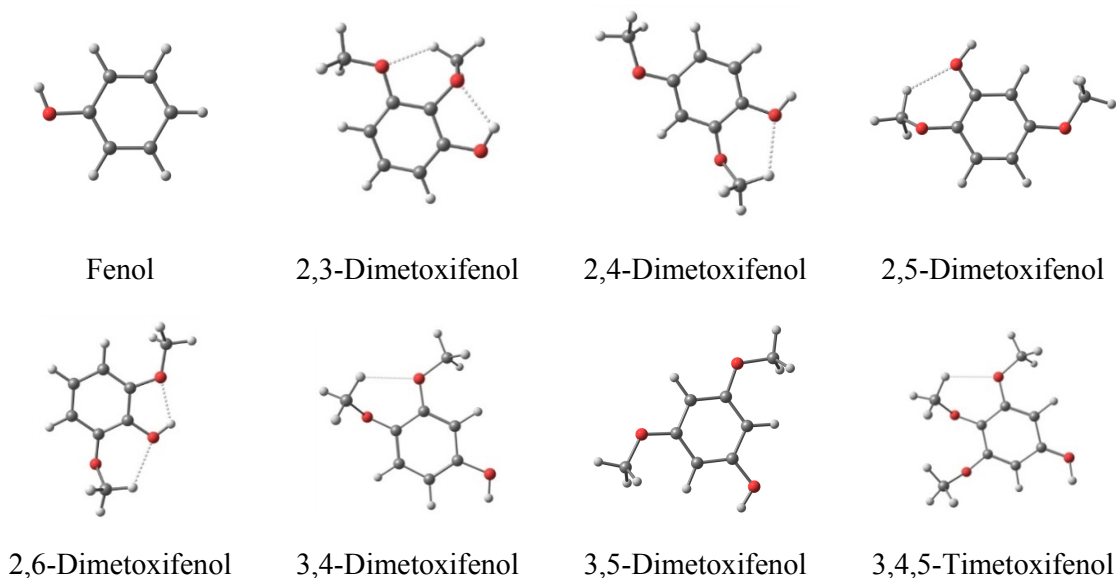


Figura 10. Representação das estruturas dos compostos da família F na forma neutra. As ligações a pontilhado representam as ligações de hidrogénio intramoleculares do tipo $X-H\cdots O$ ($X = C, O$).

Este facto pode ser constatado nas Figuras 10 e 11 que mostram as estruturas optimizadas das formas neutras dos compostos de ambas as famílias (F e C). De referir que neste tipo de compostos foi identificada a existência de ligações de hidrogénio do tipo $X-H\cdots O$ ($X = C, O$) nos compostos da família F. A família C apenas apresenta ligações $C-H\cdots O$ devido ao grupo OH não ter nenhum átomo de O vicinal que possa funcionar como aceitador (Figura 11).

No caso da família F, as interações do tipo $O-H\cdots O$ apenas são observadas nas formas neutras, pois no caso dos aniões e dos radicais (discutidos mais à frente) tal não é possível devido ao grupo hidroxilo estar desprotonado, não podendo funcionar como doador.

A confirmação da existência de ligações de hidrogénio intramoleculares do tipo $X-H\cdots O$ ($X = C, O$) nos compostos em análise foi confirmada não só pela análise dos parâmetros geométricos (distância $H\cdots O$, $r_{H\cdots O}$), mas também pela análise das ordens de ligação de Wiberg resultante de uma análise topológica *NBO*.

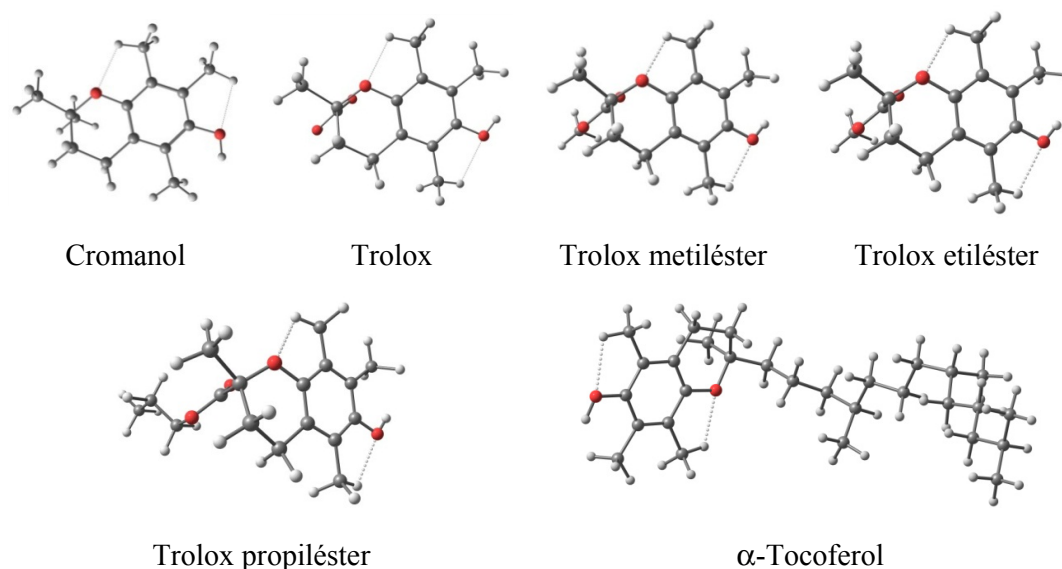


Figura 11. Representação das estruturas dos compostos da família C na forma neutra. As ligações a pontilhado representam as ligações de hidrogénio intramoleculares do tipo C–H···O.

A Tabela 1 apresenta a correlação dos valores de $r_{H\cdots O}$ com as respectivas ordens de ligação de Wiberg, confirmando a existência de uma interacção.

Tabela 1. Distâncias de interacção $r_{H\cdots O}$ e respectivas ordens de ligação de Wiberg das ligações X–H···O (X = C, O) intramoleculares dos compostos neutros das famílias F e C.

Família	Composto	$r_{H\cdots O}$	O. L. Wiberg
F	2,3 dimetoxifenol	2,12 / 2,42	0,016 / 0,003
	2,4 dimetoxifenol	2,41	0,002
	2,5 dimetoxifenol	2,49	0,002
	2,6 dimetoxifenol	2,08 / 2,40	0,011 / 0,002
	3,4 dimetoxifenol	2,50	0,002
	3,4,5 dimetoxifenol	2,37 / 2,43	0,002 / 0,001
C	Cromanol	2,30 / 2,31	0,002 / 0,003
	Trolox	2,27 / 2,32	0,002 / 0,003
	Trolox metiléster	2,27 / 2,32	0,003 / 0,002
	Trolox etiléster	2,27 / 2,32	0,003 / 0,002
	Trolox propiléster	2,27 / 2,32	0,002 / 0,003
	α-Tocoferol	2,27 / 2,32	0,002 / 0,003

De salientar que, de acordo com a Tabela 1, é possível constatar para a família C, as interações intramoleculares do tipo $C-H\cdots O$ encontradas apresentam, grosso modo, os mesmos parâmetros de $r_{H\cdots O}$ e respectivas ordens de ligação de Wiberg, independentemente do composto em análise. Tal significa que os compostos poderão apresentar semelhanças ao nível da sua actividade antioxidante, como será discutido mais tarde.

2.1.2. Compostos aniónicos

A análise aos aniões dos compostos de ambas as famílias F e C foi feita de forma análoga à realizada para os neutros, conforme descrito na secção anterior. Assim foi novamente realizada uma análise conformacional para avaliar as geometrias de menor energia, bem como a existência de interações intramoleculares. Desta forma, a Figura 12 mostra as conformações mais estáveis dos aniões da família F.

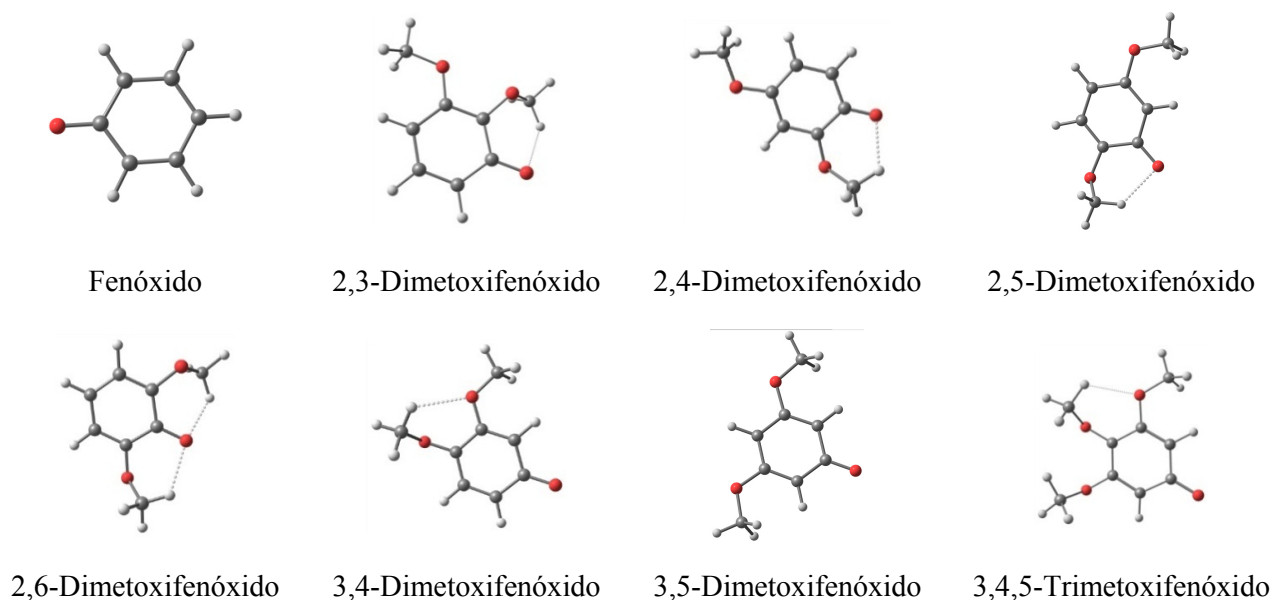


Figura 12. Representação das estruturas dos compostos da família F na forma aniónica. As ligações a pontilhado representam as ligações de hidrogénio intramoleculares do tipo $C-H\cdots O$.

De igual forma, para a família C foi também verificado que ocorrem pequenas alterações conformacionais, sobretudo no átomo de O fenólico. Dado que este tem a sua carga incrementada (mais negativa) do que no homólogo neutro e não tem o átomo de H ligado, os grupos metilo vicinais estabelecem ligações de hidrogénio $C-H\cdots O$, operando com os

doadores e originando interações intramoleculares bifurcadas. A Figura 13 mostra as estruturas optimizadas dos aniões dos compostos da família C.

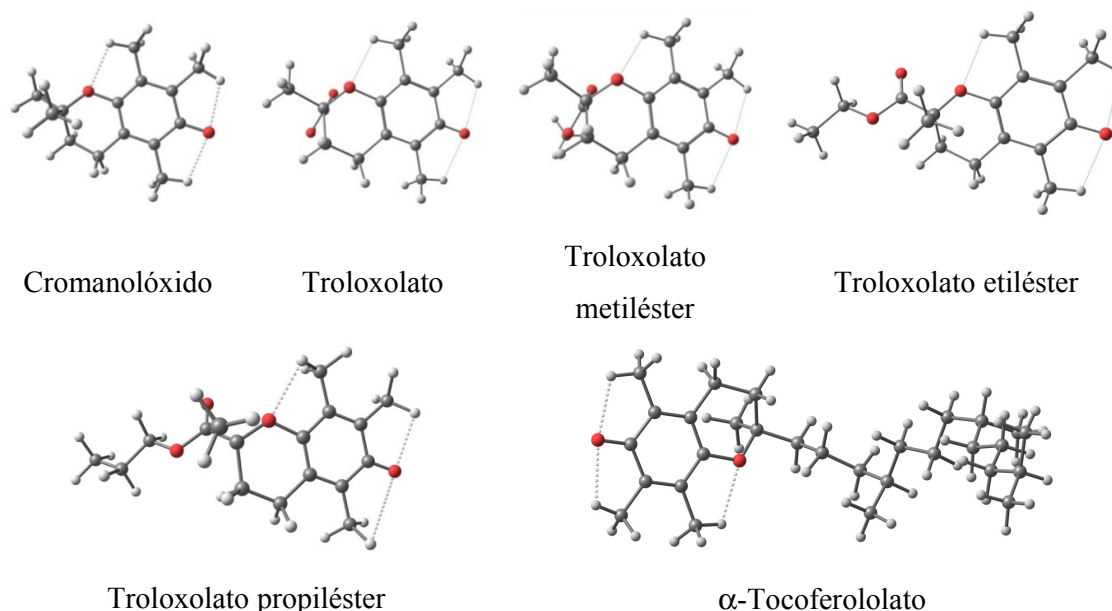


Figura 13. Representação das estruturas dos compostos da família C na forma neutra. As ligações a pontilhado representam as ligações de hidrogénio intramoleculares do tipo C–H···O.

Analisando as estruturas representadas na Figura 12 é possível ver que, apesar de semelhantes, apresentam algumas diferenças em relação às estruturas dos compostos na forma neutra, conforme mostra a Figura 10. Tal deve-se ao facto de os grupos metoxilo substituintes terem graus de liberdade que permitem uma reorganização conformacional, levando às diferenças observadas entre ambas as formas. Para exemplificar esta liberdade conformacional, foi realizado para o composto 2,6-dimetoxifenóxido um estudo da superfície de energia potencial com base nas rotações das ligações $\text{C}_6\text{H}_5\text{--OCH}_3$ e $\text{C}_6\text{H}_5\text{O--CH}_3$ cujo resultado está patente na Figura 14.

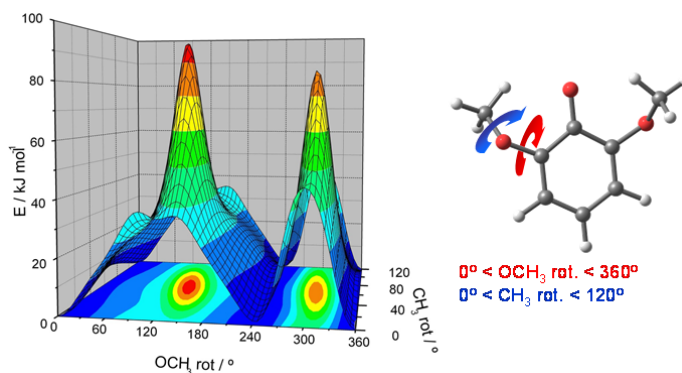


Figura 14 . Superfície de energia potencial 2D do grupo substituinte metoxilo no composto 2,6-dimetilfenóxido com base nas rotações das ligações $\text{C}_6\text{H}_5\text{—OCH}_3$ e $\text{C}_6\text{H}_5\text{O—CH}_3$.

A análise da Figura 14 confirma que estes grupos substituintes apresentam liberdade conformacional e que esta é bastante relevante, existindo para este composto duas barreiras de 100 e 90 $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$. Apesar desta liberdade conformacional, os mínimos de energia correspondem em todos os casos a conformações que prevêem a existência de ligações de hidrogénio intramoleculares exclusivamente do tipo $\text{C—H}\cdots\text{O}$ (as de tipo $\text{O—H}\cdots\text{O}$ deixam de fazer sentido, pois nos aniões não há nenhum grupo O—H para funcionar como doador). Daqui resulta que as conformações serão necessariamente diferentes uma vez que o átomo de O do grupo fenolato apresenta carga mais negativa nos aniões comparativamente aos homólogos neutros. Tal facto permite a existência de ligações de hidrogénio $\text{C—H}\cdots\text{O}$ bastante mais fortes nos aniões do que nos respectivos compostos neutros.

De acordo com a Tabela 2, que evidencia a distância de interação $r_{\text{H}\cdots\text{O}}$ e as respectivas ordens de ligação de Wiberg, é possível constatar que existem ligações mais longas e que ao mesmo tempo são mais fortes. Este facto é mais notório na família C, após comparação com a Tabela 1, referida atrás. Assim, nesta família, os primeiros valores descritos para cada composto referem-se às interações em que os grupos OH (nos neutros) ou O^- (nos aniões) actuam como aceptadores, sendo possível verificar que nos primeiros as distâncias são ligeiramente mais curtas ($r_{\text{H}\cdots\text{O}} \cong 2,27$ Å; Tabela 2) do que as correspondentes nos aniões ($r_{\text{H}\cdots\text{O}} \cong 2,29$ Å; Tabela 2). Contudo, as ordens de ligação de Wiberg mostram que nos compostos neutros as interações são bastante mais fracas, pois as ordens de ligação são de cerca de 0,003, enquanto que nos aniões são de 0,010. Este fenómeno poderá certamente ficar devido à carga superior do átomo de O nos aniões, conforme descrito acima, originando ligações de hidrogénio mais polarizadas e logo mais fortes, conforme se comprova com a análise topológica *NBO*.

Tabela 2. Distâncias de interação $r_{H...O}$ e respectivas ordens de ligação de Wiberg das ligações X–H...O (X = C, O) intramoleculares dos aniões das famílias F e C.

Família	Composto	$r_{H...O}$	O. L. Wiberg
F	2,3-Dimetilfenóxido	2,27	0,009
	2,4-Dimetilfenóxido	2,18	0,013
	2,5-Dimetilfenóxido	2,25	0,009
	2,6-Dimetilfenóxido	2,23	0,010
	3,4-Dimetilfenóxido	2,60	0,002
	3,4,5-Trimetilfenóxido	2,41	0,002
C	Cromanolóxido	2,29 / 2,32	0,010 / 0,003
	Troloxóxido	2,29 / 2,32	0,010 / 0,003
	Troloxóxido metiléster	2,29 / 2,32	0,010 / 0,003
	Troloxóxido etiléster	2,29 / 2,31	0,009 / 0,003
	Troloxóxido propiléster	2,29 / 2,31	0,009 / 0,003
	α -Tocoferolóxido	2,29 / 2,32	0,010 / 0,003

2.1.3. Compostos radicalares

Os radicais derivados dos compostos em estudo das famílias F e C foram também analisados. As análises conformacionais permitiram verificar que as geometrias de menor energia são semelhantes às descritas atrás para os aniões. De acordo com Figura 15, verifica-se que as alterações mais notórias são nas interações intramoleculares em que cada grupo metoxilo estabelece duas ligações de hidrogénio.

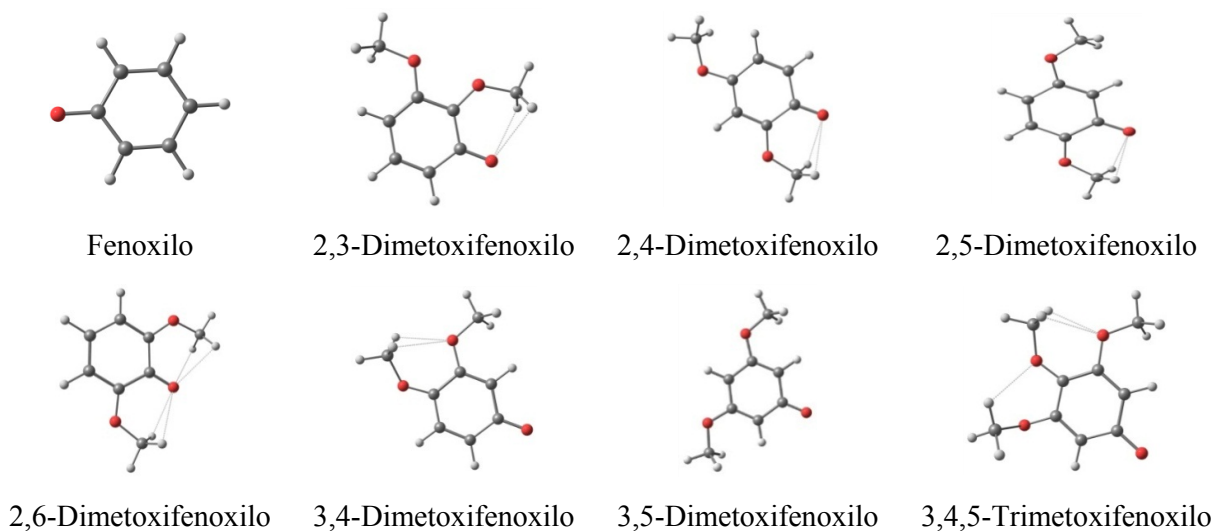


Figura 15. Representação das estruturas dos compostos da família F na forma radicalar. As ligações a pontilhado representam as ligações de hidrogénio intramoleculares do tipo C–H···O.

Pelo contrário, os radicais da família C não formam ligações de hidrogénio bifurcadas (do ponto de vista do doador), comportando-se em termos conformacionais de forma diferente.

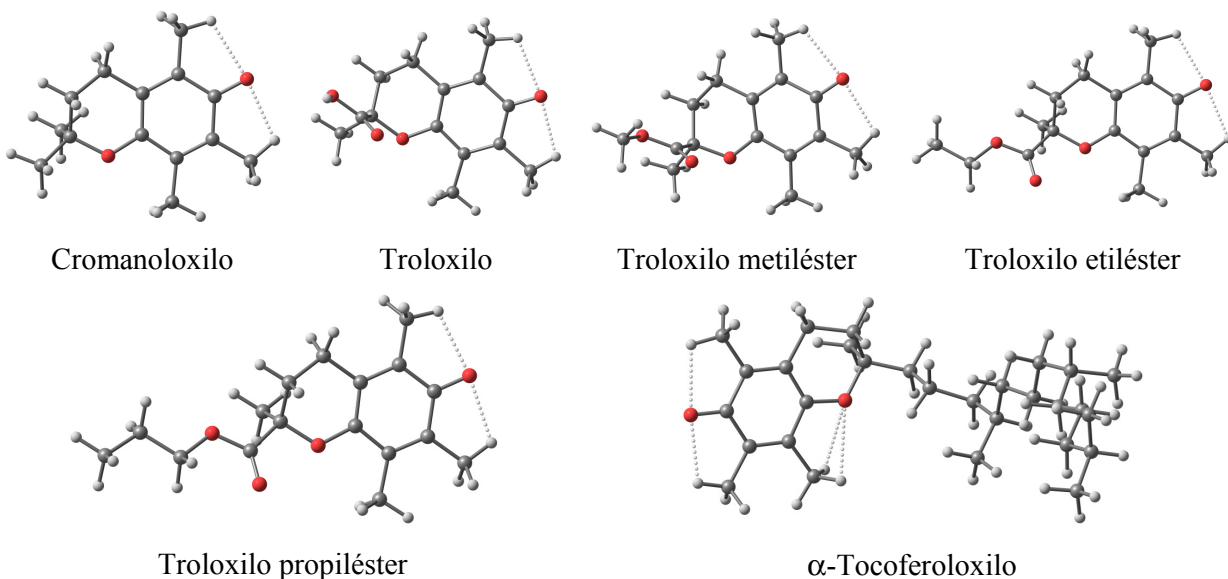


Figura 16. Representação das estruturas dos compostos da família C na forma radicalar. As ligações a pontilhado representam as ligações de hidrogénio intramoleculares do tipo C–H···O.

Ou seja, os grupos metilo vicinais ao átomo de O do grupo fenólico orientam-se de forma a que cada um estabeleça uma ligação de hidrogénio do tipo C–H···O, conforme evidenciado na Figura 16 e a exemplo do que foi descrito para os aniões respetivos (Figura 12).

Para todos os compostos de ambas as famílias, as formas radicalares apresentam ligações de hidrogénio mais fracas do que as encontradas nos aniões. Neste caso, as interações existentes nos radicais apresentam distâncias de interação, $r_{H\cdots O}$, mais longas e também mais fracas, conforme confirmado pela análise topológica das ordens de ligação de Wiberg. A Tabela 3 resume os valores destes parâmetros para os compostos de ambas as famílias.

De acordo com os valores constantes da Tabela 3, é possível constatar uma vez mais que, para os compostos da família C, não existem grandes variações de ambos os descritores das interações intramoleculares. Tal facto já tinha sido verificado para os aniões correspondentes. Um factor que poderá influenciar este resultado é o facto de os grupos metilo não apresentarem os mesmos graus de liberdade que os grupos metoxilo dos compostos da família F.

Tabela 3. Distâncias de interação $r_{H\cdots O}$ e respectivas ordens de ligação de Wiberg das ligações X–H···O (X = C, O) intramoleculares dos radicais das famílias F e C.

Família	Composto	$r_{H\cdots O}$	O. L. Wiberg
F	2,3-Dimetilfenoxilo	2,49 / 2,49	0,001 / 0,005
	2,4-Dimetilfenoxilo	2,51 / 2,51	0,001 / 0,007
	2,5-Dimetilfenoxilo	2,50 / 2,50	0,001 / 0,005
	2,6-Dimetilfenoxilo	2,48 / 2,48	0,001 / 0,005
	3,4-Dimetilfenoxilo	2,44	0,004
	3,4,5-Trimetilfenoxilo	2,43	0,003
C	Cromanoloxilo	2,30 / 2,32	0,005 / 0,005
	Troloxilo	2,30	0,004
	Troloxilo metiléster	2,30 / 2,32	0,006 / 0,006
	Troloxilo etiléster	2,30 / 2,32	0,006 / 0,006
	Troloxilo propiléster	2,30 / 2,32	0,005 / 0,006
	α -Tocoferoloxilo	2,30 / 2,32	0,005 / 0,005

De qualquer forma, é possível verificar que as interações intramoleculares nos radicais de ambas as famílias são mais fracas do que nos aniões correspondentes, uma vez que a

respectiva carga do átomo de O fenólico é menor (menos negativa) do que nos aniões respectivos. Isto resulta no estabelecimento de interações intramoleculares menos polarizadas e consequentemente mais fracas.

Ainda no caso dos radicais, um aspecto relevante a destacar e a analisar é a densidade de spin. Isto significa que esta análise permite verificar em que átomo (ou átomos) se localizará o electrão desemparelhado. A Figura 17 mostra a análise da densidade de spin aos compostos da família F.

De acordo com as imagens da Figura 17, é possível constatar que a densidade de spin está localizada sobretudo no átomo de oxigénio fenólico. Contudo, verifica-se que há uma deslocalização de uma pequena parte dessa densidade para os átomos de O e de C envolvendo grupos metoxilo, com excepção dos compostos 2,4- e 2,6-dimetoxifenoxilo, que apresentam a totalidade da densidade de spin no dito átomo de O fenólico [6].

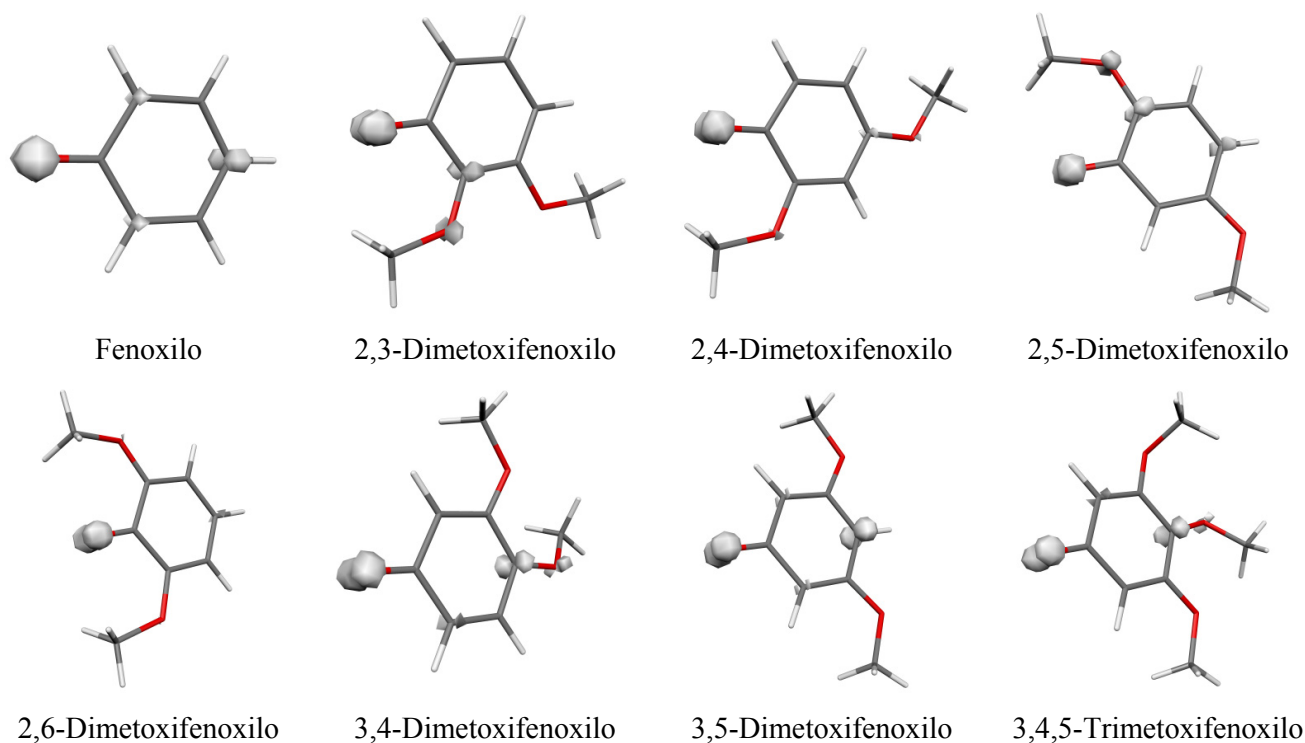


Figura 17. Representação da densidade de spin dos compostos da família F na forma radicalar.

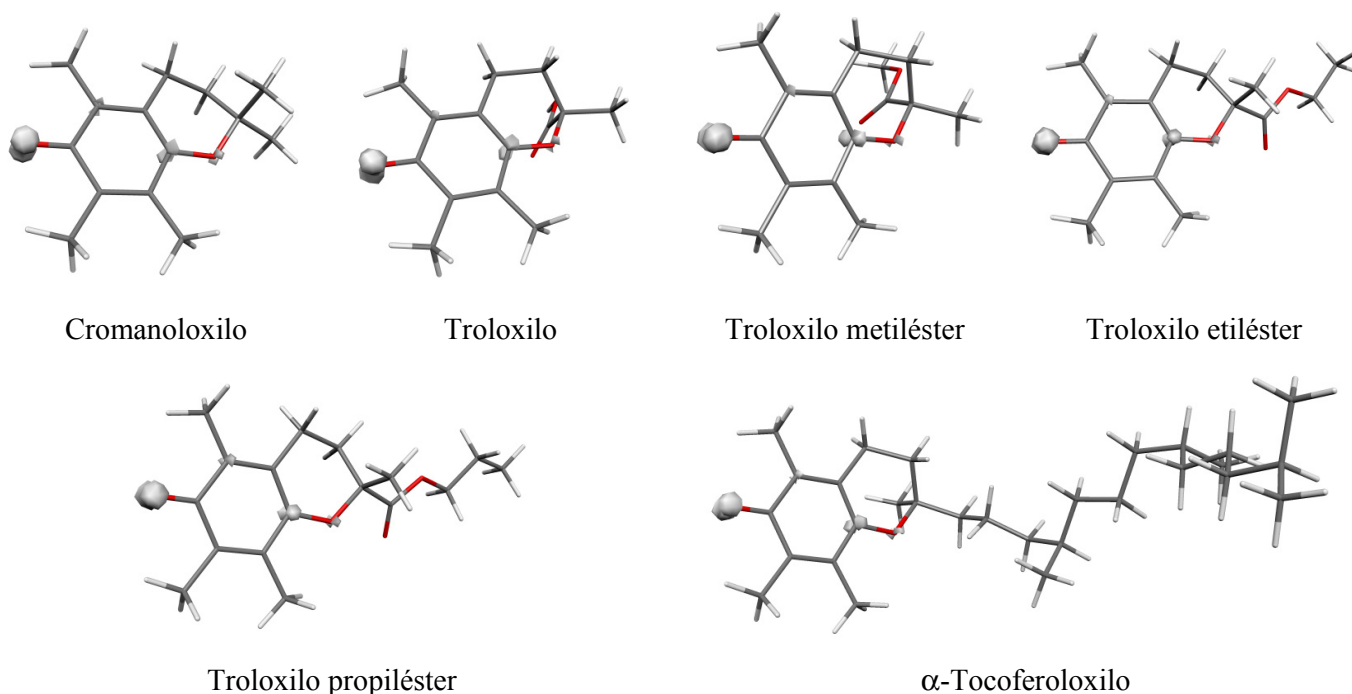


Figura 18. Representação da densidade de spin dos compostos da família C na forma radicalar.

No caso dos radicais da família C, cujos contornos da densidade de spin são apresentados na Figura 18, esta mostra que a densidade de spin se encontra também localizada no átomo de O fenólico com alguma deslocalização para o átomo de C em posição *para* e o átomo de O adjacente. Este padrão é comum a todos os radicais desta família. Daqui resulta que o esqueleto cromano permite verificar maiores semelhanças, não só a nível estrutural (conformações semelhantes e interacções intramoleculares energeticamente similares), mas também electrónico, como evidenciado pelas representações dos contornos da densidade de spin. Como será discutido mais adiante, estas semelhanças terão outras implicações no âmbito do objectivo desta tese.

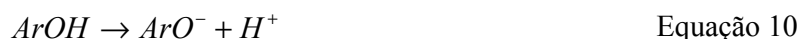
2.2. Origem da actividade antioxidante

2.2.1. Acidez dos compostos

Uma componente do estudo computacional foi prever os valores de acidez de cada um dos compostos, tendo como referência os valores de acidez do fenol. Considerando toda a informação anteriormente descrita no Capítulo 1, seria expectável que o α -tocoferol fosse um

dos compostos mais ácidos e que a sua actuação fosse em função do mecanismo de quebra heterolítica da ligação O–H [2,7,8]. Desta forma, quanto mais fraca for esta ligação, mais ácido será o composto, porque há uma maior facilidade da perda do hidrogénio. Daqui resultaria uma eventual explicação para compreender e descrever a acção antioxidante deste composto.

Para compreender esta propriedade calculou-se a entalpia de dissociação do composto neutro, originando o respectivo anião e um ião H^+ (cisão heterolítica) de acordo com



O valor de entalpia, $\Delta_{ac}H^0$, da reacção descrita na anterior corresponde à afinidade protónica do anião fenóxido (ArO^-), estando relacionada com a acidez do fenol correspondente definida por $\Delta_{ac}G^0$, que é a energia livre da reacção. De mencionar que em compostos com esqueleto semelhante como os estudados aqui (considerando agora a totalidade dos compostos como uma única família) pode-se assumir que $\Delta_{ac}G^0 \approx \Delta_{ac}H^0$, pois, a contribuição entrópica é negligenciável. Para a construção e ordenação da escala de acidez toma-se como referência o valor de entalpia da dissociação do fenol a originar o respectivo ião fenóxido. O nível de teoria utilizado neste trabalho, B3LYP/6-311++G(2d,2p), foi considerado adequado uma vez que prevê um valor de $\Delta_{ac}H^0$ para o fenol de $1454.5 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$, que se encontra de acordo com o valor experimental de $1454 \pm 8 \text{ kJ} \cdot \text{mol}^{-1}$ descrito por Angel e Ervin [9]. Fazendo o mesmo exercício para os restantes compostos de ambas as famílias, foi possível, então, determinar a sua acidez relativa, tomando o fenol como referência. Na Tabela 6 apresentam-se os valores de $\Delta_{ac}H^0$ para a referida reacção descrita pela Equação 1 para cada composto, bem como os valores de $\Delta_{ac}H^0$, que representam a acidez relativa tendo o fenol como referência da escala. A primeira evidência que se pode retirar da Tabela 4 é a boa concordância entre os valores calculados e os experimentais, para os casos é que é possível realizar tal comparação.[4,5,9] Para os restantes, uma vez que não existem dados experimentais na literatura, pode apenas presumir-se que os valores calculados são fiáveis, dada a boa concordância encontrada para os compostos em que existem valores experimentais.

Tabela 4. Valores de $\Delta_{ac}H^0$ e de $\delta\Delta_{ac}H^0$ calculados e experimentais (quando disponíveis) para todos os compostos em estudo.

Composto	Calculado (B3LYP/6-311++G(2p,2d)) ^[a]		Experimental (fase gasosa) ^[a]	
	$\Delta_{ac}H^0$	$\delta\Delta_{ac}H^0$	$\Delta_{ac}H^0$	$\delta\Delta_{ac}H^0$
Fenol	1454.5	0.0	$1454.0 \pm 8^{[b]}$	0.0
2,3 dimetoxifenol	1442.3	-12.2	$1446.9 \pm 8^{[c]}$	-7.1 ± 1.7
2,4 dimetoxifenol	1446.6	-8.0	—	—
2,5 dimetoxifenol	1431.5	-23.0	—	—
2,6 dimetoxifenol	1447.9	-6.6	$1449.4 \pm 8^{[c]}$	-4.6 ± 1.1
3,4 dimetoxifenol	1451.0	-3.5	$1454.1 \pm 8^{[c]}$	-0.1 ± 0.3
3,5 dimetoxifenol	1446.1	-8.5	$1448.8 \pm 8^{[c]}$	-5.2 ± 1.4
3,4,5 dimetoxifenol	1444.9	-9.6	—	—
Cromanol	1460.7	6.2	$1456.4 \pm 8^{[c]}$	2.4 ± 2.0
Trolox	1457.1	2.5	—	—
Trolox metiléster	1459.8	5.3	—	—
Trolox etiléster	1460.9	6.4	—	—
Trolox propiléster	1461.4	6.9	—	—
α -Tocoferol	1459.9	5.3	—	—

[a] Valores em $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$; [b] Valor retirado da ref; [c] Valores retirados da ref [5].

De acordo com a Tabela 4, é possível verificar que os compostos da família F são mais ácidos do que o fenol, pois apresentam valores de $\delta\Delta_{ac}H^0$ mais negativos do que o composto de referência. Para os compostos da família C, cromanol e seus derivados, constata-se que todos eles são menos ácidos do que o fenol. Tal facto é de alguma forma surpreendente, uma vez que seria esperado que ao funcionarem como antioxidantes, esta actividade estivesse relacionada com a acidez, propriedade que poderia estar intrinsecamente correlacionada. É preciso lembrar que no caso do trolox foi apenas prevista a dissociação do átomo de H do grupo OH fenólico e não a dissociação do grupo OH da função ácido carboxílico (neste caso o composto é bastante mais ácido do que o fenol com um valor de $\delta\Delta_{ac}H^0 = -48.2 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$; contudo não seria correcto considerar esta via no presente estudo).

Assim, para a compreensão da actividade antioxidante da vitamina E (α -tocoferol), é necessário supor que a acidez dos compostos não será responsável (ou pelo menos por si só) por essa mesma actividade.

2.2.2. Formação de radicais

Uma vez que a acidez dos compostos em estudo não permite descrever a origem da actividade antioxidante do α -tocoferol, conforme descrito na secção anterior, foi também estudado o processo de formação dos radicais [10–12]. Neste sentido estudou-se entalpia de dissociação do composto neutro, originando o respectivo radical e um radical H^\bullet (cisão homolítica) de acordo com a equação:



O valor de entalpia, $\Delta_{HAT}H^0$, da reacção descrita na Equação 11 anterior, corresponde à energia de cisão homolítica. Esta entalpia permite estimar a “facilidade” com que um composto transfere o átomo de H para uma outra espécie, que no caso dos antioxidantes será para um radical nocivo. Assim, a transferência do átomo de hidrogénio só ocorre do composto ArOH para o composto R^\bullet se o valor da entalpia da dissociação da ligação O–H do antioxidante for mais baixa do que o valor da entalpia correspondente num determinado composto RH [10]. Tem sido sugerido que moléculas como carotenóides e algumas vitaminas estejam envolvidas em diversos processos fisiológicos, devido a apresentarem propriedades antioxidantes, isto é, desenvolvem mecanismos reactivos com espécies radicais livres, limitando danos celulares. O mecanismo mais aceite baseia-se em reacções de transferência de átomos de hidrogénio (HAT, do inglês *Hydrogen Atom Transfer*) do antioxidante para o radical nocivo. Este mecanismo de transferência de átomos de hidrogénio é importante para explicar a capacidade de sequestro de radicais livres pelos antioxidantes.

Na Tabela 5 apresentam-se os valores de $\Delta_{HAT}H^0$ para a reacção descrita pela Equação 2 para cada composto, bem como os valores de $\delta\Delta_{HAT}H^0$, que representam a capacidade de transferência de átomos de H, tendo o fenol como referência da escala.

Tabela 5. Valores de $\Delta_{HAT}H^0$ e de $\delta\Delta_{HAT}H^0$ calculados para todos os compostos em estudo.

Composto	Calculado (B3LYP/6-311++G(2p,2d)) ^[a]	
	$\Delta_{HAT}H^0$	$\delta\Delta_{HAT}H^0$
Fenol	349.5	0.0
2,3 dimetoxifenol	324.6	-24.9
2,4 dimetoxifenol	305.4	-44.2
2,5 dimetoxifenol	308.4	-41.1
2,6 dimetoxifenol	330.1	-19.5
3,4 dimetoxifenol	328.5	-21.1
3,5 dimetoxifenol	339.5	-10.1
3,4,5 dimetoxifenol	326.8	-22.8
Cromanol	301.2	-48.3
Trolox	305.4	-44.1
Trolox metiléster	304.3	-45.2
Trolox etiléster	309.9	-39.7
Trolox propiléster	310.2	-39.3
α -Tocoferol	301.5	-48.0

[a] Valores em $\text{kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$.

Da análise da Tabela 5, verifica-se que todos os compostos estudados formam radicais com maior facilidade do que o fenol, a referência considerada neste estudo. Contudo, é de referir que existem diferenças entre os diversos compostos. Conforme se observa na Figura E, que representa graficamente os dados da Tabela 5, é possível constatar que um grupo de compostos origina radicais livres que se podem considerar transientes e um outro grupo que origina radicais persistentes. Entre estes dois tipos de radicais, será óbvio que um bom antioxidante irá originar um radical persistente após efectuar o processo HAT para o radical nocivo, pois os radicais transientes são reactivos, tal como o nome indica.

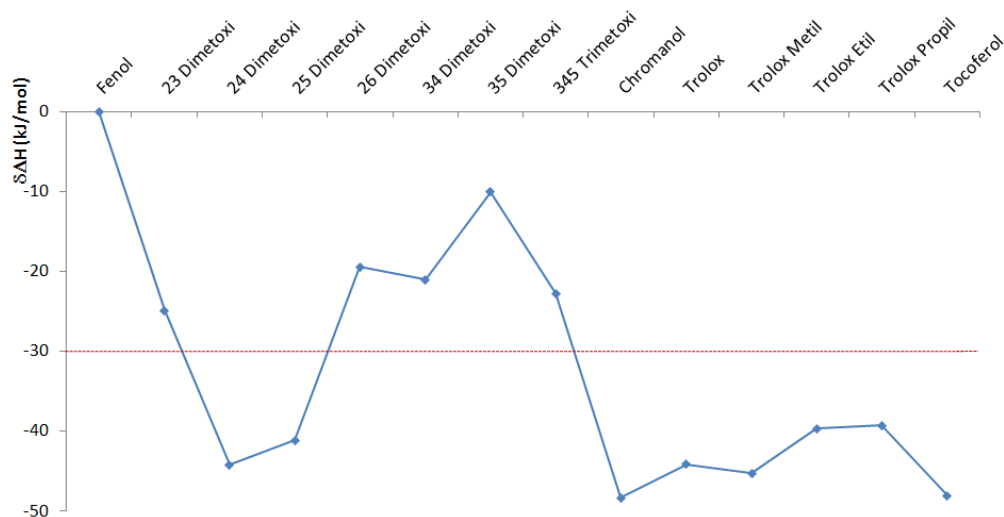


Figura19. Valores de $\delta\Delta_{HAT}H^0$ calculados para todos os compostos em estudo. A linha pontilhada a vermelho é apenas uma guia visual para dividir os compostos que dão origem a radicais transientes (acima da linha) dos radicais persistentes (abaixo da linha).

Com base nesta análise, é possível verificar que na família F todos os compostos originam radicais transientes com excepção dos compostos 2,3- e 2,4-dimetoxifenol, que originam espécies persistentes. Daqui se conclui que este tipo de compostos, excluindo estes dois referidos, forma radicais que serão reactivos e, por isso, nocivos. Como tal, não poderão ser considerados como antioxidantes. Por sua vez, os compostos da família C apresentam um comportamento mais homogéneo. Como se observa, os compostos desta família originam radicais com grande facilidade (valores $\Delta_{HAT}H^0$ baixos, Tabela 5), mas, conforme ilustrado na Figura 19, os valores de $\delta\Delta_{HAT}H^0$ mostram que estes radicais são bastante estáveis, o que permite concluir que eles serão persistentes [13-15]. Assim, pode-se assumir que, com base nestes dados, os compostos derivados do cromanol (família C) são globalmente considerados como antioxidantes e não só o α -tocoferol [2,7,8].

Mais ainda, com base nos contornos da densidade de spin discutido atrás (Figuras 17 e 18), a maior contribuição é do átomo de O do grupo fenol para todos os compostos. Contudo, para explicar as diferenças evidenciadas na Tabela 5 e Figura 19, terá de se supor que existirão fenómenos de localização/deslocalização do electrão que poderão levar a esta diferença de comportamento.

BIBLIOGRAFIA

- [1] J. K. Labanowski, R. A. Hill, D. J. Heisterberg, D. D. Miller, C. F. Bender, J. W. Andzelm, *Proton Affinities Calculated by Traditional ab initio Approaches and by Density Functional Methods*, <http://www.ccl.net/cca/documents/proton-affinity/affinities.pdf> (acedido em 16/08/2012).
- [2] G. W. Burton, T. Doba, E. J. Gabe, L. Hughes, F. L. Lee, L. Prasad, K. U. Ingold, *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, *107*, 7053.
- [3] P. J. A. Madeira, P. J. Costa, M. T. Fernandez, J. A. M. Simões, J. P. Leal, *J. Am. Soc. Mass Spectrom*, **2008**, *19*, 1590.
- [4] E. G. Bakalbassis, A. T. Lithoxoidou, A. P. Vafiadis, *J. Phys. Chem. A*, **2003**, *107*, 8594.
- [5] P. J. Amorim Madeira, M. Faddoul, M. B. Afonso, P. D. Vaz, M. T. Fernandez, J. P. Leal, *J. Mass Spectrom.*, **2011**, *46*, 640-648.
- [6] S. Ono, K. Okazaki, M. Sakurai, Y. Inoue, *J. Phys. Chem. A* **1997**, *101*, 3769
- [7] T. G. Denisova, E. T. Denisov, *Russ. Chem. Bull., Int. Ed.*, **2008**, *57*, 1858.
- [8] T. G. Denisova, E. T. Denisov, *Russ. Chem. Bull., Int. Ed.*, **2009**, *58*, 1609.
- [9] L. A. Angel, K. M. Ervin, *J. Phys. Chem. A* **2004**, *108*, 8346–8352.
- [10] M. I. de Heer, H. Korth, P. Mulder, *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 6969.
- [11] P. R. Bangal, *J. Phys. Chem. A* **2007**, *111*, 5536.
- [12] S. Nagaoka, K. Ishihara, *J. Am. Chem. Soc.*, **1996**, *118*, 7361.
- [13] I. Tejero, N. González-García, A. González-Lafont, J. M. Lluch, *J. Am. Chem. Soc.*, **2007**, *129*, 5846.
- [14] A. Martínez, A. Barbosa, *J. Phys. Chem. B*, **2008**, *112*, 16945.
- [15] M. Jerzykiewicz, I. Cwiela-Piasecka, M. Witwicki, A. Jezierski, *Chem. Phys.*, **2011**, *383*, 27.

CAPÍTULO III: CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

3. CONCLUSÕES E PERSPECTIVAS

Com o objectivo de estudar a origem da actividade antioxidante do α -tocoferol (vitamina E) foi necessário estudar compostos homólogos. O primeiro passo do estudo computacional foi então a análise estrutural por forma a estabelecer para cada um a sua conformação, energeticamente, mais favorável. Em todos os compostos, verificou-se que as conformações de menor energia se encontram estabilizadas pela existência de ligações intramoleculares de hidrogénio do tipo $X-H\cdots O$ ($X = C, O$), que induzem uma estabilização adicional daquelas conformações nos compostos fenólicos neutros. No caso dos aniões e radicais derivados daqueles compostos, uma vez que não possuem grupo OH fenólico, por cisão hetero- ou homolítica daquele grupo, respectivamente, apenas se verifica a existência de ligações intramoleculares do tipo $C-H\cdots O$.

Após a análise estrutural, estudou-se a origem da actividade antioxidante do α -tocoferol, estudando a acidez dos compostos e seguidamente a sua capacidade de formação de radicais, num mecanismo de transferência de átomo de hidrogénio (HAT). De uma forma resumida, os compostos dimetoxifenol são mais ácidos do que o fenol. No entanto, o cromanol e seus derivados (α -tocoferol, trolox, etc...) apresentam menor acidez do que o fenol, a referência utilizada na escala relativa. De acordo com os resultados obtidos, foi possível ordenar os compostos consoante a sua acidez, da seguinte forma:

2,5-Dimetoxifenol > 2,3-Dimetoxifenol > 3,4,5-Trimetoxifenol > 3,5-Dimetoxifenol \approx 2,4-Dimetoxifenol > 2,6-Dimetoxifenol > 3,4-Dimetoxifenol > *Fenol* > Trolox > Trolox metiléster \approx α -Tocoferol > Cromanol > Trolox etiléter > Trolox propiléster.

Ao analisar a transferência de átomos de hidrogénio (mecanismo HAT), que origina os radicais fenoxilo correspondentes, verificaram-se alguns factos interessantes. O primeiro é que todos apresentam a densidade de spin localizada quase exclusivamente no átomo de oxigénio fenólico (que sofre a cisão homolítica), apesar de se observar alguma deslocalização para átomos de C e O vicinais. O outro facto que se observa é que os radicais das duas famílias (F e C) apresentam características diferentes. Ou seja, os radicais da família F são regra geral transientes, ao passo que os da família C se apresentam como persistentes. Assim, é possível constatar que todos os compostos homólogos do α -Tocoferol, ou seja, que apresentam o esqueleto do cromanol, se comportam como antioxidantes. Isto porque ao formarem os respectivos radicais estes são considerados persistentes, tomando como referência o fenol, a exemplo do que foi considerado para a acidez.

Este estudo serve de base a um outro estudo, de base experimental, utilizando espetrometria de massa para realizar estudos termoquímicos e, eventualmente, confirmar os resultados obtidos no âmbito deste estudo. De facto resultados para os sistemas mais simples (família F) foram já alvo de estudo tendo inclusivé sido publicados recentemente. Num futuro próximo espera-se que esta abordagem experimental possa ser extendida aos compostos de estrutura mais complexa da família C.

CAPÍTULO IV: DETALHES EXPERIMENTAIS

4. DETALHES EXPERIMENTAIS

Cálculos DFT [1] foram realizados utilizando o programa *Gaussian03*, rev. C02 [2], com o funcional híbrido B3LYP, que inclui uma mistura de Hartree-Fock com correlação DFT dada pelo funcional híbrido de três parâmetros de Becke com funcional de correlação de gradiente-corrigido de Lee Yang e Parr [3,4]. O conjunto de bases de Pople – 6-311++G(2d,2p) foi utilizado em todos os átomos.

As geometrias de todos os compostos estudados nas formas neutras, aniônicas e radicalares foram optimizadas sem quaisquer restrições ao nível de teoria B3LYP/6-311++G(2d,2p), conforme mencionado acima, tendo-se realizado sob critérios de convergência apertados quer para os ciclos de optimização quer para os ciclos *SCF*. A opção *Ultrafine* para a malha de integração foi concomitantemente adoptada. As geometrias iniciais foram construídas com base em resultados disponíveis na literatura. [5,6,7]. Para o cromanol e o trolox, as geometrias iniciais foram encontradas na base de dados *Cambridge Structural Database (CSD)* – *refcodes* MOPHLB e DEWVOQ, respectivamente [8,9]. Para o composto 3,4,5-trimetoxifenol, a geometria inicial foi a de um composto derivado de (2-(3-metil-2-butenil)-3,4,5-trimetoxifenol; *refcode* NALBAD), que também se encontra na *CSD*. As análises conformacionais foram realizadas fazendo varrimentos não relaxados das coordenadas de interesse, utilizando o comando *Scan* tal como implementado no *Gaussian03*. As segundas derivadas harmónicas foram calculadas por forma a avaliar a natureza de mínimos e estimar os valores de energia do ponto zero (*ZPE*) e correção térmica para entalpia. As entalpias a 298 K foram obtidas a partir da Equação 12 [10]:

$$H = E^0 + ZPE + H_{trans} + H_{rot} + H_{vib} + RT \quad \text{Equação 12}$$

onde E^0 é a energia electrónica, *ZPE* é a energia do ponto-zero, e H_{trans} , H_{rot} e H_{vib} são as contribuições translacionais, rotacionais e vibracionais, respectivamente. H_{trans} e H_{rot} são $3/2RT$ para uma molécula não-linear; H_{vib} (correção térmica da entalpia) é extraído directamente do cálculo de frequências do *Gaussian03*. O último termo, *RT*, representa o trabalho pV .

A representação das estruturas optimizadas foi feita recorrendo ao programa *Chemcraft* [11] e os contornos da densidade de spin dos radicais foram calculados utilizando o programa *Molekel v.4.3* [12] com base nos coeficientes das orbitais moleculares.

As cargas naturais dos átomos e as ordens de ligação de Wiberg foram efectuadas recorrendo a uma análise topológica de orbitais naturais (*NBO*), conforme implementado no pacote *Gaussian03*.

BIBLIOGRAFIA

- [1] R. G. Parr, W. Yang. *Density-Functional Theory of Atoms and Molecules*. Oxford University Press: Oxford, **1989**.
- [2] M. J. Frisch, G. W. Trucks, H. B. Schlegel, G. E. Scuseria, M. A. Robb, J. R. Cheeseman, J. J. A. Montgomery, T. Vreven, K. N. Kudin, J. C. Burant, J. M. Millam, S. S. Iyengar, J. Tomasi, V. Barone, B. Mennucci, M. Cossi, G. Scalmani, N. Rega, G. A. Petersson, H. Nakatsuji, M. Hada, M. Ehara, K. Toyota, R. Fukuda, J. Hasegawa, M. Ishida, T. Nakajima, Y. Honda, O. Kitao, H. Nakai, M. Klene, X. Li, J. E. Knox, H. P. Hratchian, J. B. Cross, V. Bakken, C. Adamo, J. Jaramillo, R. Gomperts, R. E. Stratmann, O. Yazyev, A. J. Austin, R. Cammi, C. Pomelli, J. W. Ochterski, P. Y. Ayala, K. Morokuma, G. A. Voth, P. Salvador, J. J. Dannenberg, V. G. Zakrzewski, S. Dapprich, A. D. Daniels, M. C. Strain, O. Farkas, D. K. Malick, A. D. Rabuck, K. Raghavachari, J. B. Foresman, J. V. Ortiz, Q. Cui, A. G. Baboul, S. Clifford, J. Cioslowski, B. B. Stefanov, G. Liu, A. Liashenko, P. Piskorz, I. Komaromi, R. L. Martin, D. J. Fox, T. Keith, M. A. Al-Laham, C. Y. Peng, A. Nanayakkara, M. Challacombe, P. M. W. Gill, B. Johnson, W. Chen, M. W. Wong, C. Gonzalez, J. A. Pople. *Gaussian 03, Revision C.02*. Gaussian, Inc.: Wallingford, CT, **2004**.
- [3] A. D. Becke, *J. Chem. Phys.* **1993**, 98, 5648.
- [4] C. Lee, W. Yang, R. G. Parr, *Phys. Rev. B* **1988**, 37, 785.
- [5] M. A. R. Matos, M. S. Miranda, V. M. F. Morais, *J. Chem. Eng. Data*, **2003**, 48, 669.
- [6] E. G. Bakalbassis, A. T. Lithoxoidou, A. P. Vafiadis, *J. Phys. Chem. A* **2003**, 107, 8594.
- [7] M. I. de Heer, H.-G. Korth, P. Mulder, *J. Org. Chem.* **1999**, 64, 6969.
- [8] F. H. Allen, *Acta Crystallogr. B Struct. Sci.* **2002**, 58, 380.
- [9] G.W. Burton, T. Doba, E.J. Gabe, L. Hughes, F.L. Lee, L. Prasad, K.U. Ingold, *J. Am. Chem. Soc.*, **1985**, 107, 7053.
- [10] J. W. Ochterski, *Thermochemistry in Gaussian*, http://www.gaussian.com/g_whitepap/thermo.htm (accedido em 16/08/2012).
- [11] *Chemcraft*: <http://www.chemcraftprog.com/index.html/>.
- [12] U. Varetto, *MOLEKEL Version 4.3*; Swiss National Supercomputing Centre: Lugano (Switzerland).